

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université de Nancy

MENTION "PHARMACIE"

PAR

René FRIBOURG

Pharmacien

Ex-préparateur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Diplômé de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Diplômé d'Etudes supérieures, Physiques Chimiques et Naturelles

Prix de Microbiologie et Prix d'Analyses Chimiques

de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Né à Gouvieux (Oise), le 14 Août 1902

Étude

de la Mobilité des Micro-Organismes
dans le Champ Électrique

Soutenue le 24 Mai 1939, devant la Commission d'Examen

Président . . . MM. LASSEUR

Juges { KAYSER
VERNIER

NANCY

SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES

1939

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE NANCY

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université de Nancy

MENTION " PHARMACIE "

PAR

René FRIBOURG

Pharmacien

Ex-préparateur à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Diplômé de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Diplômé d'Etudes supérieures, Physiques Chimiques et Naturelles

Prix de Microbiologie et Prix d'Analyses Chimiques

de la Faculté de Pharmacie de Nancy

Né à Gouvieux (Oise), le 14 Août 1902

—:—

Étude

de la Mobilité des Micro-Organismes dans le Champ Électrique

—:—

Soutenue le Mai 1939, devant la Commission d'Examen

—:—

Président . . . MM. LASSEUR

Juges { KAYSER
 . VERNIER

—:—

NANCY

SOCIÉTÉ D'IMPRESSIONS TYPOGRAPHIQUES

1939

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen:

M. F. KAYSER *

Assesseur:

M. A. MEUNIER

Doyens honoraires:

M. BRUNTZ, C *, I , O , + , + , Recteur de l'Université de Nancy.
M. SEYOT, *, I , , + , Professeur d'Histoire naturelle

Professeurs honoraires:

M. GRÉLOT, *, I , .
M. BRUNTZ, C *, I , O , + , + .

Professeurs:

MM. DOURIS, I , , + Toxicologie.
PASTUREAU, O *, I , + ... Pharmacie chimique.
SEYOT, *, , I , , + Histoire naturelle.
LASSEUR, *, I , , Microbiologie.
MEUNIER Pharmacie galénique.
Mlle M.-Th. FRANÇOIS Matière médicale.
M. KAYSER Chimie.

Maître de Conférences

M. MARCHAL Sciences naturelles.

Agrégé libre:

M. GIRARDET, *, I , Chimie et Toxicologie

Chargés de cours:

M. SEYOT, *, , I , , + , Pr. Cryptogamie.
Mlle M.-Th. FRANÇOIS, professeur.. Hygiène.
MM. KAYSER, professeur Chimie minérale.
DONZELOT, , Pr Fac. Sciences Physique.
SIMONNET, I , , Pr Fac. Droit. Déontologie.
MARCHAL, maître de conférences. Hydrologie.
VERNIER, I , Zoologie.
CORDEBARD, *, , I , Analyse chimique.
STEIMETZ, , Minéralogie.
RICHARD Chimie organique.



Chefs de travaux:

MM. VERNIER, I , Microbiologie et Parasitologie.
CORDEBARD, *, , I , Chimie et Analyse chimique.
STEIMETZ, , Micrographie.
DONZELOT, , (chargé de trav.). Physique.
RICHARD (chargé de travaux) ... Pharmacie.
BAILLY (chargé de travaux) Chimie biologique et Toxicologie.

Secrétariat:

M. TRIBOLET, I , Secrétaire.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PH. LASSEUR

*Le Maître éminent
à qui je dois mon
initiation à la Science.*

*En témoignage de ma
profonde gratitude.*

A MA MERE

*En témoignage de mes
sentiments de vive affection.*

A MON PERE

*Mon premier et savant Maître
de pratique professionnelle,
avec ma très affectueuse
reconnaissance.*

MEIS ET AMICIS

AVANT-PROPOS

Dès ma seconde année de Faculté, en 1924, Monsieur le Professeur Ph. LASSEUR voulait bien m'accueillir dans son Laboratoire. Jeune étudiant, je réalisais mal tout ce que j'allais y voir et y apprendre. Je devais particulièrement y goûter la joie, nouvelle pour moi, de la recherche de la Vérité. Dans cette « atmosphère céleste des Laboratoires » dont parle Claude BERNARD, j'ai passé plusieurs années aux côtés d'un Maître et de Camarades qui ont constitué pour moi et constituent encore, dans la prolonge qu'est l'Association des Diplômés de Microbiologie, la plus belle des Familles.

Mon Maître, pour m'initier à la Recherche, me chargea tout d'abord de l'installation dans son Laboratoire d'un appareil électrométrique de détermination des pH. A cet effet, j'ai demandé de précieux conseils à Monsieur J. BARBAUDY qui a bien voulu me réserver le meilleur accueil dans son Laboratoire de la Sorbonne. Plus tard, je devais également recueillir de très utiles renseignements à l'Institut PASTEUR de PARIS auprès de Monsieur LECOMTE DU NOÛY. A ces Savants vont mes sentiments de respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur LASSEUR me proposa alors l'attrayant sujet du présent Travail. Il me guida, me traça les expériences à effectuer, me contrôla avec bienveillance et patience. Il m'aida dans l'interprétation des résultats. Je lui dois en entier ce Travail puisque, sans lui, je n'aurais pu le mener à bien. Je lui demande donc de bien vouloir accepter ici le témoignage de ma très profonde reconnaissance. Je le prie également de croire à ma grande admiration pour son œuvre scientifique qui contribue, dans tous les pays du Monde, au prestige de la Science française. Je ne veux en citer comme preuve que sa nomination de Vice-Président de la Section 2 du Congrès International de Microbiologie de NEW-YORK (1939). Avoir pu, très modestement, apporter une part de collaboration à un tel Savant sera toujours pour moi un titre de fierté. Je remercie en outre mon Maître de me faire l'honneur de présider mon Jury.

Monsieur le Doyen KAYSER a bien voulu accepter de faire partie du Jury de cette Thèse. Je lui en suis profondément reconnaissant et suis heureux d'avoir l'occasion de lui manifester les sentiments de déférence que je nourris à son égard et les remerciements que le Pharmacien doit à Celui qui se dévoue sans compter pour la Profession.

Monsieur le Docteur VERNIER m'a montré beaucoup de bienveillance en acceptant également d'être membre de mon Jury. Il connaît l'affection qu'ont pour lui tous les Etudiants (anciens et actuels) de la Faculté de Pharmacie et particulièrement les Membres du Laboratoire de Microbiologie. Sa grande bonté est proverbiale. Elle est doublée, et cache parfois, de très larges connaissances scientifiques. Je le prie de croire à mes sentiments de très vive gratitude.

J'ai été amené, au cours de ce Travail, à expérimenter d'une façon assez complexe puisqu'il me fallait opérer avec des germes lavés, trois fois et avec des suspensions homogènes. Des centrifugations successives, des mesures de pH, des mesures photométriques, quelquefois même des numérations, tout cela devait aller de pair avec les expériences de Transport électrique des Bactéries. Un expérimentateur ne peut pas réaliser de telles Recherches consistant à la détermination simultanée de plusieurs paramètres, sans avoir recours à des Collaborateurs. C'est la raison pour laquelle, sous la direction de Monsieur le Professeur LASSEUR, j'ai effectué beaucoup de mes recherches avec l'aide de mes Camarades du Laboratoire. Sans eux, je n'aurais pu faire autant de mesures; il est donc tout naturel que je leur exprime toute ma gratitude. Vouloir les nommer tous entraînerait fatalement des oublis. On ne démembre pas une famille. En la remerciant toute entière, chacun voudra bien se reconnaître. Je dois cependant faire une exception: Madame LASSEUR a, en effet, participé à de nombreuses mesures; elle m'a, de plus, beaucoup guidé dans mes recherches bibliographiques. Je la prie de croire à mes sentiments les plus reconnaissants.

Travail effectué au Laboratoire
de M. le Professeur LASSEUR

INTRODUCTION

Les vérités ne sont fécondes que si elles sont enchaînées les unes aux autres. « *Si l'on s'attache seulement à celles dont on attend un résultat immédiat, les anneaux intermédiaires manquent et il n'y aura pas de chaîne.* » (Henri POINCARÉ in *La Valeur de la Science*.)

C'est bien à un sentiment du même ordre qu'obéissait LORTET lorsqu'il soumit des Bactéries vivantes à l'influence des courants induits. Le savant français ne prévoyait pas que l'électrophorèse (1) pourrait un jour être utilisée, soit pour isoler les virus filtrants des produits infectieux, soit pour caractériser les types de *Brucella*. Identification et diagnose des infections peuvent donc être un des buts d'une étude sur le transport électrique des micro-organismes.

Mais il est un autre problème dans lequel la charge électrique peut constituer un des facteurs importants: c'est celui de l'agglutination. Celle-ci a fait l'objet de très belles recherches au Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy. Aussi, Monsieur le Professeur LASSEUR, voulant utiliser le goût pour les Sciences Physiques et Mathématiques que des études de Mathématiques Spéciales avaient laissé en moi, m'indiqua, comme sujet de Thèse, des recherches à effectuer dans cette partie physique d'un phénomène microbiologique.

Et c'est ainsi que j'ai été amené tout d'abord à rechercher en Bibliographie ce qui avait été fait jusqu'ici sur cette question. C'est l'objet de la Première Partie de ce travail où, après avoir décrit le phénomène et les techniques employées par les auteurs, j'ai principalement exposé les applications du Transport électrique des Bactéries à l'étude du rôle de la charge électrique dans l'agglutination, à l'isolement des virus filtrants, à la caractérisation de différents types microbiens, à l'étude de la relation entre la charge électrique et la colorabilité et à l'analyse capillaire.

(1) « Le phénomène de déplacement des granules dans le champ électrique porte le nom d'électrophorèse; suivant que l'orientation des granules s'opère vers la cathode ou vers l'anode, on lui donne parfois le nom de cataphorèse ou d'anaphorèse; cependant l'expression de cataphorèse est fréquemment employée dans le sens d'électrophorèse, sans qu'elle précise le sens du déplacement par le courant » (P. BARY) 1921.

J'ai relaté dans la Deuxième Partie de cet ouvrage mes recherches personnelles. Elles s'étagent de 1928 à 1939 et c'est là que réside la difficulté d'exposition de résultats qui, poursuivis dans la même voie, l'ont été en fait avec des moyens de plus en plus perfectionnés.

On pourrait évidemment omettre les résultats publiés en 1928 et s'en tenir à ceux que l'on considère comme les moins entachés d'erreurs expérimentales. Cette façon de faire séduirait assez le Lecteur qui voudrait parcourir un exposé concis de l'état actuel de la question. Mais, pour un chercheur, cette façon de faire présente de nombreux inconvénients. Tout d'abord, l'homme de laboratoire n'est sûr de rien, et même lorsqu'il emploie des moyens perfectionnés, il n'a pas la certitude que la valeur obtenue soit déterminée avec une précision suffisante. Il est donc bon de laisser au Lecteur des points de repère afin qu'il puisse se faire lui-même une idée de l'ordre des erreurs commises. De plus, dans l'histoire d'un problème, il est infiniment plus intéressant de repasser par tous les stades et de voir les approximations successives obtenues par l'auteur.

Tel est le travail que j'ai entrepris. L'ai-je mené à bien? On atteint rarement le but qu'on s'est proposé; il est cependant possible, dans une voie, d'aller un peu plus loin que ses devanciers et d'apporter ainsi une modeste contribution à l'étude envisagée. C'est ce que je pense avoir fait en ce qui concerne certains phénomènes biologiques.



PREMIERE PARTIE

**Technique, Historique
et Applications
du transport électrique des Bactéries,
des Champignons et des Cellules**

CHAPITRE PREMIER

Description du phénomène

Nous croyons nécessaire, pour la compréhension des chapitres qui vont suivre, de donner ici une description sommaire de ce qu'est le transport électrique des Bactéries, ou électrophorèse bactérienne.

Imaginons une lame de verre sur laquelle sont appliquées deux lames conductrices en or, en argent ou en platine dont les extrémités laissent entre elles un espace libre d'environ 10 mm. Ces conducteurs sont reliés aux bornes d'une batterie d'accumulateurs. Entre les deux lames, on dépose une grosse goutte d'une suspension de plastides bactériennes débarrassées, autant que cela est possible, de tout électrolyte par lavage à l'eau distillée. On recouvre d'une lamelle couvre-objet l'ensemble de cette goutte et de l'extrémité des deux conducteurs, puis on examine cette préparation au microscope.

Par la pensée, découpons 3 couches (supérieure, médiane et inférieure) dans la masse liquide. Mettons au point successivement sur chacune de ces couches. On constate que dans la couche supérieure, c'est-à-dire celle qui se trouve près de la lamelle couvre-objet ainsi que dans la couche inférieure qui est placée près de la lame de verre, les corps microbiens se déplacent dans le sens inverse de celui qu'on observe dans les couches médianes.

Nous verrons plus loin les causes qui déterminent l'existence de ces couches inverses. Ajoutons que, pour une couche déterminée, on remarque une certaine orientation et un déplacement presque parallèle de toutes les plastides vers l'un des pôles. La vitesse des différents éléments microbiens est sensiblement la même. Nous venons ainsi de décrire sommairement ce qu'est le « *transport électrique des Bactéries* ».

C'est une première approximation. COMANDON (1913) a montré, en effet, que toutes les particules d'une suspension ne se comportent pas de

la même façon dans l'électrophorèse. Quelques microbes se colleraient aux parois, d'autres se mettraient à tourner. Cependant, dans les expériences de KOFMAN (1926), ce phénomène est rare.

Ces généralités établies, nous allons maintenant étudier les techniques employées par les différents auteurs dans l'étude du transport électrique.



CHAPITRE II

Techniques employées dans le transport électrique des Bactéries, des Champignons et des Cellules

La charge électrique des Bactéries peut être déterminée par de nombreuses méthodes que, pour la facilité de l'exposition, nous diviserons en deux groupes : celui des méthodes microscopiques et celui des méthodes macroscopiques.

A) Méthodes microscopiques

Dès 1896, LORTET étudia le transport électrique. Il se servait pour cela d'une lame de verre creusée de quatre rainures profondes se coupant à angles droits ; dans chaque sillon, se trouvait mastiqué un fil de platine ; ces fils ne devaient pas se toucher, mais laisser entre eux un espace libre d'environ un centimètre carré sur lequel on déposait la suspension bactérienne. L'auteur recouvrait d'une lamelle mince et reliait deux fils parallèles à une bobine de RUHMKORFF.

C'est en 1906 que COTTON et MOUTON indiquent leur technique du transport électrique microscopique. Les auteurs prennent « deux bandes de platine DD, larges par exemple de dix millimètres et épaisses de quelques microns, que l'on dispose à la suite l'une de l'autre, de façon que leurs extrémités soient séparées par un intervalle qui variera avec la source d'électricité dont on dispose, et sera par exemple de 15 mm. pour une force électromotrice de 30 volts. Ces deux lames sont mises en place grâce à une goutte du liquide à étudier, qui suffit pour les faire adhérer au verre par capillarité.

« On fixe de la même façon sur la lame porte-objet deux bandes de mica m m, dans le but de donner à la préparation une épaisseur suffi-

« sante, dépassant par exemple 1/10 de millimètre. L'observation peut se
« faire sans employer ces bandes de mica, mais nous verrons que l'em-
« ploi d'une préparation épaisse est nécessaire si l'on veut reconnaître
« d'une façon certaine le signe du transport électrique. »

Le dispositif utilisé par COTTON et MOUTON est représenté par les figures 1 et 2. De plus, ces auteurs précisent leurs conditions d'observation; il est nécessaire, en effet :

1° D'utiliser des liquides renfermant relativement peu de particules en suspension.

2° De choisir pour l'observation la région située à égale distance des deux électrodes, car c'est auprès de celles-ci que se produisent des phénomènes parasites qui pourraient constituer des causes d'erreur, au cas où l'observation porterait obligatoirement sur des régions situées près des

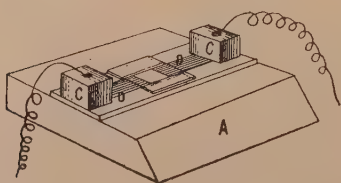


FIG. 1



FIG. 2

électrodes. Les auteurs utilisent, pour établir le contact avec les lames « deux blocs en communication avec les deux pôles d'une batterie d'accumulateurs ». En faisant passer le courant, « on voit les points brillants se déplacer aussitôt vers l'une des électrodes et revenir en arrière dès qu'on renverse le sens du courant. Si l'on veut être fixé sans ambiguïté sur le sens du transport du colloïde, il faut en outre, mettre au point vers le milieu de la couche liquide; dans le cas dont il s'agit, par exemple, on voit les points se diriger vers l'anode ». COTTON et MOUTON constatent que les vitesses de transport varient à peu près en raison directe du voltage et en raison inverse de la distance qui sépare les électrodes. Ils observent l'action des parois et signalent l'existence « de couches inverses » dont on remarque la présence en examinant les couches successives de la préparation. Prenons un exemple et supposons que l'expérience soit effectuée avec des suspensions dont les particules sont chargées électronégativement. Pour une mise au point relative à la région supérieure, les particules sont transportées vers le pôle négatif. A mesure qu'on enfonce le tube du microscope, on voit décroître la vitesse de transport de ces par-

ticules, puis on arrive à la partie médiane où elles se dirigent en sens inverse, c'est-à-dire vers le pôle positif. Si l'on continue à enfoncer le tube du microscope, on observe enfin une troisième couche de liquide où le transport des particules se fait vers le pôle négatif, comme dans la couche supérieure. « *L'épaisseur de ces couches où le mouvement des particules est inverse, est, dans le cas d'une paroi de verre et de l'argent de BREDIG, d'environ 25 μ .* ». Il y a lieu de remarquer que l'épaisseur des couches inverses ne paraît pas varier quand on augmente l'épaisseur de la préparation. Par contre, lorsqu'on diminue celle-ci, « *la partie centrale du liquide s'amincit de plus en plus, les couches inverses se rejoignent et tous les granules vont vers la cathode. On voit dès lors, l'importance de la remarque faite plus haut relativement à l'épaisseur qu'on doit donner à la préparation. Si l'on n'y prenait garde, il y aurait là une cause d'erreur capable de tromper l'observateur sur le sens du transport électrique.* »

De nombreux dispositifs microscopiques paraissent dériver plus ou moins directement de l'appareil de COTTON et MOUTON. C'est le cas du dispositif utilisé par COMANDON. Voici d'ailleurs dans quels termes cet auteur s'exprime :

« On peut adopter le dispositif de MM. COTTON et MOUTON pour « l'étude des colloïdes à ce même point de vue. Au lieu des électrodes « en platine nous avons employé de minces couches d'or déposées sur la « lame aux deux endroits correspondant à la situation des électrodes de « COTTON et MOUTON (l'or était appliqué par le procédé de la pulvérisation cathodique dans le vide). Enfin, le moyen le plus simple et auquel nous donnons la préférence est le suivant :

« La préparation est faite selon le mode ordinaire : une goutte assez « volumineuse du liquide est déposée sur la lame, par dessus on met une « lamelle ; on prend alors des rectangles de papier buvard d'environ 1 « centimètre sur 2 centimètres. Après les avoir imbibés du liquide à examiner on les pose sur les bords droit et gauche de la préparation, de « façon à ce qu'ils soient moitié sur la lamelle et moitié sur la lame. « Ces papiers sont recouverts de feuilles d'étain de même surface qui « empêchent l'évaporation.

« Cette préparation est disposée sur la platine du microscope ; les valets « (isolés de la masse métallique de l'instrument) s'appuient sur les feuilles d'étain et servent à la conduction du courant. Pour les particules « très fines, comme les Bactéries, on suit beaucoup mieux le phénomène « du transport en éclairant latéralement la préparation, par un condenseur sur fond noir (ultra microscope).

« Vu le peu d'épaisseur de la préparation et la distance des électrodes, il faut disposer d'un voltage assez considérable. Nous nous servons généralement d'une pile de 24 éléments au bisulfate de mercure ou du courant continu d'un secteur (110 volts); nous interposons dans le circuit une résistance variable: rhéostat à liquide. Il ne passe en général dans la préparation qu'une fraction de milliampère. Dans le circuit nous disposons aussi les appareils de mesure et un inverseur de courant. »

Signalons que A. von SZENT-GYÖRGYI (1920), et NORTHROP (1922) ont décrit des appareils de transport microscopique munis d'électrodes impolarisables. Cette précaution est capitale quand on veut prolonger les expériences de transport pendant un temps très long. Au contraire, pour des temps très courts, il n'est pas utile d'employer de telles électrodes. Dans sa technique du diagnostic de la syphilis, M. SEKI (1922) décrit également un appareillage microscopique à électrodes impolarisables permettant de déterminer la charge des particules en suspension. En 1932, le savant japonais se sert d'ailleurs à nouveau de cet appareil.

En 1926, KOFMAN opère de la façon suivante: une goutte de la suspension microbienne est déposée sur une lame. Aux deux extrémités de cette lame, l'auteur dispose « une touffe de coton de verre imbibée également de la solution à étudier ». La préparation est recouverte avec une lamelle. Le coton de verre doit dépasser assez largement le bord de la lamelle pour servir d'électrodes. L'auteur réalise des électrodes impolarisables en recouvrant les touffes de coton de verre par une bande de papier filtre imbibée d'une solution de chlorure de sodium à 8 pour 1.000. Ce papier est recouvert à son tour d'un autre papier filtre imprégné d'une solution de sulfate de zinc. Enfin ces papiers sont reliés aux bornes d'une source électrique grâce à des blocs métalliques dont la partie inférieure est constituée par une masse de zinc et la partie supérieure par une masse de cuivre.

KOFMAN étudie ensuite les conditions générales relatives à des mesures correctes d'électrophorèse. Il rappelle les causes d'erreurs mises en évidence par COTTON et MOUTON en ce qui concerne l'existence des couches inverses.

SMOLUCHOWSKI calcule que la vitesse de l'eau est nulle dans les deux couches éloignées de la paroi supérieure d'une distance:

$$D = d \left(\frac{1}{2} \pm \frac{\sqrt{1}}{12} \right)$$

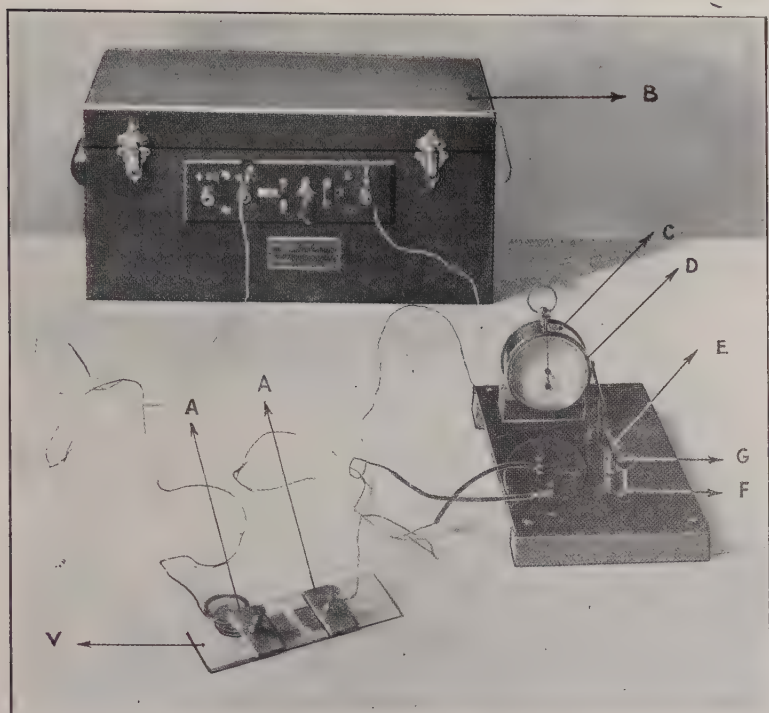


FIG. 3

- A: lame d'argent doré pouvant coulisser sur la lame de verre;
- B: accumulateur;
- C: chronomètre;
- D: levier de mise en marche du chronomètre;
- E: clef-Morse;
- F: contact;
- G: bouton de la clef-Morse;
- V: lame de verre.

d étant la hauteur de la couche liquide. On voit donc que ces couches sont à environ à $1/5$ et aux $4/5$ de la paroi supérieure. L'auteur dit qu'en pratique on se contente de mettre au point sur la couche moyenne comme le recommande COTTON et MOUTON. Nous croyons au contraire que les examens doivent porter sur les couches où l'on n'observe pas de transport du liquide. KOFMAN signale encore très justement qu'en prolongeant le passage du courant, on constate des phénomènes de polarisation, et des dégagements gazeux qui constituent également des causes d'erreurs.

En 1928, S. MATTSOY utilise un appareil avec lequel il étudie microscopiquement le transport électrique. Celui-ci est constitué par un tube permettant par deux petites fenêtres polies l'éclairage et l'examen microscopique. (In PRAUSNITZ.)

En 1932, Ph. LASSEUR et A. DUPAIX utilisent un appareil destiné au transport microscopique dont les détails techniques permettent des mesures extrêmement précises et diminuent considérablement la valeur de l'équation personnelle.

Le principe est celui du dispositif de COTTON et MOUTON. L'appareil est réalisé de la façon suivante: Sur une lame de verre épais mesurant 130 mm. $\times$ 35 mm., on ménage une chambre d'épaisseur déterminée où l'on dépose la suspension à étudier.

Des lames d'argent doré d'épaisseur convenable sur lesquelles sont soudées les bornes de connexion constituent les électrodes qui permettent de produire un champ électrostatique. La fermeture du circuit et la mise en marche du chronomètre, de même que l'ouverture du circuit et l'arrêt du chronomètre sont réalisés synchroniquement grâce à une clef Morse munie d'un levier.

Les auteurs donnent les précisions suivantes qui sont à retenir pour ceux qui veulent se livrer à des expériences de ce genre:

« En pratique on a toujours intérêt à suivre une plastide qui se trouve à la limite du champ microscopique, mais encore faut-il s'assurer que cette plastide se déplace facilement. Aussi, est-on conduit à établir des contacts rapides en F (voir figure 3) à l'aide d'une pièce métallique quelconque sans appuyer sur le bouton G, c'est-à-dire sans déclencher le chronomètre. C'est après s'être bien assuré de la mobilité de la plastide dont on veut déterminer la vitesse de transport que l'on appuie sur le bouton G. Il ne faut pas oublier, en effet, que certaines plastides peuvent être immobilisées par des causes diverses. »

• LISBONNE et SEIGNEURIN (1933) utilisèrent un dispositif microscopique

pique comprenant une cellule de 350 μ de profondeur. La distance des électrodes était de 31 millimètres; le champ électrique de 13 volts par cm. Un micromètre oculaire permettait de mesurer les déplacements des éléments microbiens.

Signalons enfin qu'en 1933, YAMAHA et ISHII utilisent un appareil microscopique constitué par une chambre à cataphorèse avec deux électrodes impolarisables.

B) Méthodes macroscopiques

Nous ne pouvons pas entrer dans le détail de tous les dispositifs macroscopiques qui ont été utilisés dans le transport électrique des particules en suspension. Nous nous limiterons à certains appareils et particulièrement à ceux dont on s'est servi dans la détermination de la charge des Bactéries.

On sait que les premières observations d'électrophorèse sont dues à LINDER et PICTON (1892-1895-1897).

Citons donc en premier lieu le tube droit utilisé par LINDER et PICTON et qui est abandonné maintenant par l'ensemble des auteurs. Ce dispositif fut cependant utilisé en 1924 par M. MOONEY.

A notre connaissance, le premier auteur qui utilisa un tube en H, c'est-à-dire un tube ayant approximativement la forme d'un H majuscule, est HARDY en 1903.

COTTON et MOUTON, de qui nous avons décrit une méthode microscopique, utilisaient également une méthode de transport macroscopique. Dans leur ouvrage de 1906, ces auteurs décrivent ainsi leur appareil :

« Un tube en U..., muni d'une tubulure au milieu de la courbure, porte sur ses deux branches deux parties rétrécies où l'on a mis deux tampons de gélose ou de gélatine additionnée de gélose... Dans la partie centrale, on introduit par la tubulure le colloïde à étudier, puis on remplit les deux branches du tube en U avec de l'eau pour fermer ensuite les extrémités par des bouchons mastiqués que traversent les électrodes. »

En 1907, TEAGUE et BUXTON emploient un tube en U différent de l'appareil de COTTON et MOUTON par un étranglement; de plus, les électrodes plongent dans l'eau pure au-dessus des suspensions.

Certains auteurs se sont efforcés de réaliser des appareils à électrodes impolarisables. C'est ce qu'on observe dans le dispositif de MICHAËLIS (1909) qui n'est d'ailleurs qu'une modification du tube de COEHN (1909).

BURTON (1910) emploie également la méthode du tube en U de

NERNST, WHETHAM et HARDY. L'appareil de BURTON est constitué par un tube en U dont les deux branches ont 12 centimètres de long, 15 mm. de diamètre. Chaque branche est graduée en millimètres dans toute sa longueur. Le remplissage de l'appareil s'effectue à l'aide d'un tube dont la partie supérieure a la forme d'un entonnoir. Les électrodes sont immergées dans le solvant pur qui occupe la partie de l'appareil située au-dessus de la solution colloïdale. Pour effectuer les mesures à température constante, BURTON immerge l'appareil dans un large bain-marie en verre. Les électrodes sont en platine recouvert de noir de platine. Indiquons que BURTON réalise en général un gradient de potentiel de 1 volt par centimètre et que dans certaines de ses expériences, il utilise un gradient de potentiel égal à :

$$\frac{118 \text{ volts}}{23,8 \text{ cm.}} = 4,9 \text{ volts par cm.}$$

Mais, « les mesures effectuées par cette méthode donnent lieu à plusieurs difficultés. Elle n'est applicable qu'aux sols suffisamment colorés pour qu'on puisse discerner la couche de contact. Cette dernière change souvent de forme pendant le cours de l'expérience, ce qui empêche les mesures précises... la surface de contact est presque toujours troublée par les produits de polarisation qui se forment sur les électrodes ».

Dans un autre ordre d'idées, un certain nombre d'auteurs et tout d'abord COTTON et MOUTON ont séparé les liquides analysés des liquides où baignent les électrodes par un tampon de gélose.

Nous citerons également Ph. LASSEUR et L. SPILLMANN (1921) qui ont utilisé le tampon de gélose dans certaines de leurs expériences. Afin d'éviter l'inconvénient des courbures les auteurs ont employé, dans leurs recherches, un tube en T avec électrodes amovibles. Dans ce dispositif, la colonne de liquide à transporter était horizontale.

Les difficultés de lecture dans les appareils de BURTON, de MICHAËLIS, etc..., ont amené T. SVEDBERG et E.-R. JETTE (1923) à employer un éclairage latéral avec une lumière riche en rayons ultra-violets. Ces dispositifs rendent de grands services chaque fois que la phase dispersée est fluorescente. En l'absence de fluorescence, les auteurs ont eu recours au phénomène de TYNDALL.

C'est encore pour éviter le mélange du liquide à transporter et du liquide qui le surmonte que certains auteurs, notamment JANEK (1924)

séparent la solution à étudier de la solution où baignent les électrodes par une membrane de collodion.

L'appareil de S.-G.-T. BENDIEN et L.-W. JANSSEN (1927) présente un perfectionnement notable sur les appareils précédents. On retrouve le tube à entonnoir, les électrodes impolarisables et deux électrodes de secours permettant de mesurer la différence de potentiel dans la zone où s'effectue le transport électrique. En résumé, cet appareil est donc constitué par un triple tube en U.

LANDSTEINER-PAULI d'une part et MUKHERJEE'S d'autre part utilisent comme BENDIEN et JANSSEN, un appareil basé sur le triple tube en U, les électrodes impolarisables, les électrodes de secours. Ces auteurs s'efforcent de réaliser en outre l'immobilité du liquide à transporter par une série de robinets.

Pour obvier aux inconvénients que nous avons signalés en décrivant l'appareil de BURTON, KRUYT et WILLIGEN en 1928 placent leurs électrodes dans des tubes latéraux soudés aux branches de l'appareil en U. Dans le souci de faciliter les lectures, KRUYT et ses collaborateurs conseillent d'avoir recours au dispositif d'éclairage suivant : éclairez le tube en U avec la lumière ultra-violette qui causera la fluorescence de certains sols, ou bien diriger de haut en bas un faisceau lumineux dans les branches du tube en U de façon à produire une sorte d'effet TYNDALL.

Il est à remarquer que certains auteurs ont préféré utiliser des tubes en U retournés. Un des dispositifs les plus simples est celui de H.-H. PAINE (1928). De ce dispositif nous rapprocherons celui du célèbre Professeur de l'Université de Fribourg : DHÉRÉ. Cet appareil est employé plus spécialement pour l'électrodialyse.

Dans son remarquable précis de Chimie-Physique, Fred VLÉS (1929), étudie non seulement les différentes méthodes de cataphorèse, mais encore décrit l'appareil de VLÉS et COULON qui consiste dans l'emploi de six tubes en U rappelant le tube de COHEN; sur chacun de ces tubes sont montés par rodage deux tubes coudés qui viennent déboucher dans des petits godets. On peut aussi placer horizontalement les six tubes « en série » sur un support.

KOPACZEWSKI (1930) consacre un chapitre de son traité de Biocolloïdologie à l'étude de l'électrophorèse. KOPACZEWSKI étudie un grand nombre de techniques utilisées soit pour le transport des colloïdes soit pour le transport de particules organisées.

L'auteur préconise un dispositif qui permet d'effectuer le transport

électrique dans l'eau courante avec de faibles quantités de colloïdes et d'assurer en outre une asepsie parfaite.

PRAUSNITZ et REITSTÖTTER (1931), signalent l'appareil de F.-O. HOWITT et E.-D.-R. PRIDEAUX (1930), appareil compliqué mais destiné à éliminer toutes les causes d'erreurs.

En 1930, LEPINE décrit un appareil (figure 4) destiné à la cataphorèse des liquides virulents et constitué par un tube en verre neutre qui a la forme d'un trident, autrement dit par un tube en U auquel on aurait ajouté en son milieu une troisième branche, parallèle aux deux premières. C'est par cette branche médiane qu'on introduit le liquide virulent entre deux colonnes de liquide isotonique. On observe le transport de ce liquide

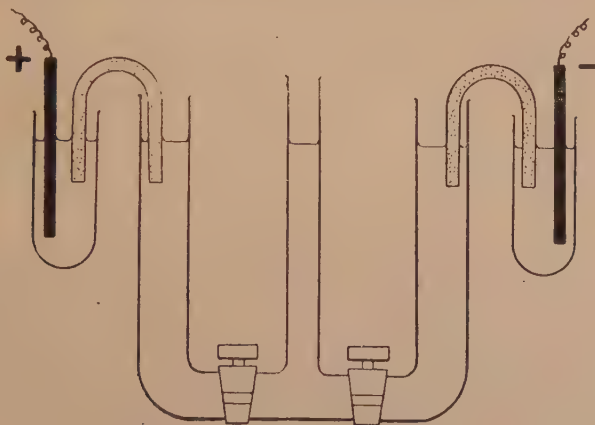


FIG. 4

Appareil d'électrophorèse de P. Lépine.

virulent en faisant des prélèvements après passage du courant pendant deux ou trois heures. Les deux branches sont reliées aux électrodes par des tubes latéraux situés dans la partie supérieure.

Lina GUASTALLA (1931), dans une note présentée par Pierre GIRARD décrit un appareil de transport macroscopique qui assurerait « l'invariance » du pH du milieu dans les zones anodique et cathodique. Pour cela, l'auteur dispose entre le liquide à transporter et les électrodes impolarisables des tubes en U remplis de charbon absorbant « destinés à arrêter la diffusion des produits d'électrolyse tant anodique que cathodique » ; GUASTALLA utilise également des tubes en U remplis de gélose à 2,5 % s'opposant « à la diffusion des grains déplacés par le courant ». Le pH de cette gélose doit être choisi en rapport avec le pH du liquide de dispersion des grains.

CHAPITRE III

Historique des résultats

A) TRANSPORT DES BACTERIES ET DES CHAMPIGNONS

Nous allons faire précéder l'état actuel de la question d'un exposé historique aussi complet que possible. En le faisant, nous rendrons hommage aux novateurs. Nous contribuerons donc à payer la dette de reconnaissance que la Société a contractée vis-à-vis de ceux qui ont consacré leur vie à la recherche de la vérité.

Mais encore avant cet exposé historique du Transport électrique des Bactéries, nous voulons rappeler les noms de ceux qui furent les véritables précurseurs de cette étude en pratiquant le *Transport électrique des corps inorganisés*.

Dès 1861, QUINCKE constatait le transport électrique des grains d'amidon et des spores de Lycopode. Il mesurait directement au microscope la vitesse d'une spore de Lycopode. Malheureusement, cet auteur opérant dans des tubes très gros ne pouvait éviter la cause d'erreur due aux couches inverses qui s'observent le long des parois.

On peut donc sans injustice grave attribuer à LINDER et PICTON (1892-1895-1897) l'honneur d'avoir mis en évidence l'électrophorèse de particules en suspension dans l'eau. L'amidon, le noir de platine finement divisé, l'or, le cuivre, le fer, le graphite, le quartz, le feldspath, l'ambre, le soufre, les spores de Lycopode, etc... se déplacent vers le pôle positif. Le sens du transport varie lorsqu'on utilise l'essence de térébenthine comme milieu dispersif. Toutes les particules en suspension se dirigent alors vers le pôle négatif.

S'appesantir plus longtemps sur l'électrophorèse des particules inorganisées serait sortir du cadre de ce mémoire. Signalons cependant que, vers la même époque, WYDEMANN (1893) observait que les particules en suspension dans l'eau sont chargées négativement tandis que l'eau, par frottement, devient chargée positivement.

C'est en 1896 que LORTET, dans une note parue aux Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences, étudie l'influence des courants induits sur l'orientation des Bactéries vivantes. Pour ce savant « *les Bactéries vivantes se présentant sous forme de Bacilles mobiles, sont très sensibles à l'influence des courants induits et s'orientent immédiatement dans le sens du courant* ».

L'auteur utilisait une méthode microscopique que nous avons décrite dans le chapitre précédent; la source de courant était constituée par une bobine de RUHKORFF. Voici ce qu'il observe:

« *A l'instant même où l'on met les fils écartés dans le porte-objet en contact avec les conducteurs de la bobine, les certaines de Bacilles visibles dans le champ du microscope, se placent parallèlement au courant. Leurs mouvements de translation sont alors tout à fait arrêtés; leurs trépidations se manifestent toujours, mais très faiblement. Si au moyen de deux autres conducteurs, on fait passer l'électricité dans une direction perpendiculaire à la première, on voit toutes les Bactéries changer de position et se placer instantanément dans le sens du nouveau courant... Dès que le courant est arrêté, les microbes tournent dans toutes les directions. Dès qu'il recommence à se faire sentir, l'alignement se produit de nouveau... Soumises, pendant près de douze heures à l'influence d'un courant extrêmement énergique, les Bactéries (Bacillus subtilis et formes similaires) n'en paraissent nullement affectées, car elles reprennent leurs mouvements dès que le courant est arrêté.* »

LORTET avait donc vu que les Bactéries sont susceptibles de se déplacer dans un champ électrique puisqu'elles sont soumises à un mouvement de va et vient lorsqu'elles sont placées dans le champ d'un courant alternatif. Il nous faut faire ici une remarque: dans la suite de son article, LORTET semblerait établir une relation entre le déplacement des Bactéries et leur vitalité, notamment leurs mouvements propres. Si nous comprenons bien l'auteur, les corps microbiens dépourvus d'organes moteurs ne devraient pas se déplacer dans le champ électrique. Il en serait de même des Bactéries âgées ou mortes.

Nous verrons que ces dernières affirmations n'ont pas été vérifiées ultérieurement. Le faible transport des Bactéries provenant de cultures âgées s'explique par la présence d'électrolytes, les plastides bactériennes étant douées de pouvoirs-ferments énergiques et de ce fait enrichissent les milieux en électrolytes.

Par sa double formation médicale et scientifique, le Professeur BECH-

HOLD devait largement contribuer à l'étude du mécanisme de l'agglutination des Bactéries. Dès 1904, dans un mémoire classique paru dans « *Zeitschrift für physikalische chemie* », BECHHOLD utilisait un tube en U. Les électrodes en platine étaient situées à des distances variant de 10 à 20 mm.; la différence de potentiel aux bornes était de 16 à 28 volts. Dans ces conditions d'expérience, les Bactéries étaient transportées à l'anode, tandis que les plastides chargées d'agglutinine n'étaient pas transportées.

En 1906, Victor HENRI et M^{lle} CERNOVODEANU ont déterminé le signe électrique de la Bactéridie charbonneuse et du Colibacille, du Bacille typhique, du Bacille tuberculeux, du Bacille de la Phléole, du Bacille dysentérique de FLEXNER.

Une « *émulsion* » de ces différents microbes vivants est placée dans une chambre humide munie de deux électrodes; les auteurs ont utilisé l'eau distillée comme liquide dispersif. Lorsqu'on fait passer le courant « *on voit immédiatement un transport des microbes vers l'un des deux pôles* ». Les résultats peuvent se résumer ainsi: Tous les microbes précédents, sauf le Bacille dysentérique de FLEXNER, sont chargés négativement, c'est-à-dire se déplacent vers le pôle positif; le Bacille dysentérique de FLEXNER est chargé positivement. Les auteurs se sont efforcés d'établir une relation entre la charge des Bactéries et leur colorabilité. Nous retiendrons également des belles expériences de ces savants, les deux conclusions suivantes:

1° Le signe de la charge électrique des microbes précédents reste le même lorsqu'on les tue par la chaleur; ainsi se trouve contredite l'affirmation de Lortet.

2° Lorsqu'on acidifie le milieu dans lequel on fait une émulsion de microbes négatifs, on constate que la charge électrique diminue beaucoup et peut même devenir nulle. Nous trouvons donc là des exemples de fixation d'ions H⁺.

C'est encore en 1906 que paraît l'ouvrage devenu classique de COTTON et MOUTON sur les ultra-microscopes. Nul n'était mieux qualifié que les deux célèbres Savants français pour synthétiser l'ensemble des faits observés à l'échelle ultra-microscopique et les rendre accessibles au biologiste. En employant les techniques que nous avons décrites dans le chapitre précédent, COTTON et MOUTON étudient le mécanisme de l'agglutination. Ils constatent que « *les Bactéries à l'état ordinaire sont franchement transportées par le courant électrique vers l'anode* », tandis que chargées

d'agglutinine, elles ne subissent aucun transport appréciable et finissent par être agglutinées à la place qu'elles occupent.

L'électrodialyse a suscité de nombreux travaux. DHÉRÉ (1910-1911) fut un novateur; il mit au point d'une façon parfaite la technique de l'électrodialyse dans ses recherches sur la purification des colloïdes biologiques.

Dans de remarquables travaux parus en 1913, le savant français COMANDON s'occupe également de la charge des Bactéries. COMANDON constate que le Bacille typhique « *se transporte toujours vers la cathode; il avait donc une charge électropositive* ». Par contre, de nombreuses races de Colibacille se transportaient vers l'anode. Sur du matériel différent, COMANDON confirme un fait déjà mis en évidence par Victor HENRI: les Bactéries peuvent avoir une charge positive ou négative suivant l'espèce expérimentée. Nous devons signaler que COMANDON n'opère pas sur des corps bactériens dépourvus d'électrolytes ce qui amène, nous le verrons, une grande complication dans les phénomènes de transport. En expérimentant sur les races de Bacille typhique et les races de Colibacille, l'éminent physicien français constate que ces diverses races ne sont pas toujours franchement électro-positives ou franchement électro-négatives. COMANDON fait remarquer d'autre part que lorsqu'il s'agit d'une culture d' « *une même race, faite de la même façon, le champ électrique agit d'une manière identique. Si la culture est faite sur des milieux différents et surtout si cette culture est âgée, l'effet du courant peut être modifié* ». Le savant auteur retrouve donc implicitement l'influence des électrolytes sur le transport électrique.

L'hommage que nous rendons aux Savants français ne doit pas nous faire oublier la reconnaissance que nous avons contractée vis-à-vis de l'école américaine et notamment à l'égard de TEAGUE et BUXTON (1907).

Ces Savants constatent que les Bacilles typhiques se dirigent vers l'anode et que les Bacilles chargés d'agglutinine sont transportés eux aussi à l'anode comme les Bacilles non chargés d'agglutinine. Par addition d'acide chlorhydrique, on diminue la vitesse de transport qui peut devenir nulle. Par contre, les Bacilles chargés d'agglutinine peuvent montrer un renversement du signe de la charge par addition d'acide chlorhydrique. Ce renversement qui s'observe avec *B. pyocyaneus* ne pourrait cependant pas être généralisé.

Le renversement du signe de la charge constitue un fait nouveau dont nous tenons à souligner l'importance dès maintenant.

Tous les biologistes ont présent à la mémoire les services que Victor

HENRI a rendus à la Biologie. C'est encore un de ses élèves, Pierre GIRARD, qui, en collaboration avec AUDUBERT, a précisé les relations entre les charges électriques des Microbes et leur tension superficielle.

P. GIRARD et R. AUDUBERT (1918) étudient dans un compte rendu à l'Académie des Sciences « les charges électriques des microbes et leur tension superficielle ». Voici ce qu'écrivent ces auteurs: « Lorsqu'on soumet à un champ électrique des microbes émulsionnés dans un bouillon de culture, de l'eau physiologique ou de l'eau sucrée, on constate qu'ils se déplacent vers l'anode; tout se passe comme si chaque microbe était revêtu d'une couche électrique négative (anion) adhérente à sa paroi, et glissant sous l'action du champ, le long d'une autre couche électrique positive (cathion) de même densité, appartenant au milieu de suspension; la distance d qui sépare les deux couches est de l'ordre des diamètres moléculaires.

« L'attention des Bactériologistes ne s'est pas portée, jusqu'à présent sur cette couche double électrique dont dépend cependant une caractéristique physique essentielle du protoplasma: sa tension superficielle. »

P. GIRARD et R. AUDUBERT envisagent également l'action des ions trivalents, notamment des ions La^{+++} . Lorsqu'on fait agir les sels de Lanthane sur les microbes, on constate qu'une diminution suffisante de la densité de la couche électrique détermine l'agglutination. Ces auteurs adoptent donc implicitement la notion de différence de potentiel critique.

Vivant en contact avec le Professeur P.-Th. MULLER, créateur de l'enseignement de la Chimie-Physique en France, Ph. LASSEUR devait être vivement intéressé par les travaux de Victor HENRI et de ses collaborateurs. Aussi Ph. LASSEUR et L. SPILLMANN, dans leur ouvrage sur les « Réactions anticorps » (1921) ont-ils été amenés à étudier le transport électrique des plastides additionnées ou non de sérum homologué. Les auteurs utilisaient des germes hautement agglutinables et opéraient dans des systèmes de concentration saline variable. Les résultats obtenus peuvent se résumer de la façon suivante:

« Les Bactéries en suspension dans l'eau distillée sont transportées à l'anode...

« Les plastides bactériennes chargées d'agglutinine, en milieu pauvre en électrolytes, sont transportées à l'anode tout comme les Bactéries en suspension dans l'eau distillée.

« Les suspensions microbiennes (*B. balticus*, *B. chlororaphis*, etc...) mises au contact des agglutinines et en présence de quantités de NaCl de l'ordre de 100 à 200 milligrammes par litre sont partiellement flo-

« culées... L'examen microscopique révèle la présence de nombreux petits amas et de plastides isolées... Petits amas et plastides isolées sont transportés à l'anode avec la même vitesse que les Bactéries en suspension dans l'eau distillée... Cette vitesse de transport n'est pas sensiblement modifiée par une légère augmentation de la teneur en électrolytes déterminant la formation d'amas de 10 à 15 éléments. Par conséquent, la précipitation des plastides bactériennes a lieu bien avant le point exact de neutralité électrique. Elle ne s'effectue donc pas au point isoélectrique. »

En 1923, CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN déterminent microscopiquement le signe de la charge électrique de très nombreuses Bactéries. A la suite de cette étude, les auteurs concluent de la façon suivante :

« Le signe électrique peut être considéré comme un caractère pour certaines familles telles que Bacilles dysentériques, paratyphiques B; dans ce dernier groupe, cependant, le *B. enteritidis* de GERTNER et le Bacille de la Psittacose, qui ne se différencient par ailleurs des autres paratyphiques B que par la réaction d'agglutination, ont un signe électrique différent des autres. Enfin, il semble qu'il puisse y avoir des variations dans le signe électrique, suivant l'âge des microbes. » **Remarquons que Cluzet, Rochaix et Kofman introduisent pour la première fois la charge électrique dans la systématique bactériologique.**

KOFMAN (1926) dans un travail important (1) sur le transport électrique des microbes a opéré en général sur plusieurs échantillons d'une même espèce microbienne. C'est ainsi qu'il aurait constaté une grande variabilité du signe électrique suivant l'âge de la culture, mais, jusqu'à présent du moins, rien ne permet de savoir si l'auteur a opéré sur des corps microbiens lavés et débarrassés de milieu nutritif ou si, au contraire, il a expérimenté sur des bouillons de culture. Dans ce dernier cas, l'étude du transport aurait été singulièrement compliquée, comme nous l'avons déjà vu.

L'auteur envisage également dans son travail les méthodes d'évaluation de la charge électrique. S'inspirant de la théorie générale d'HELMHOLTZ, KOFMAN a recherché dans quelles limites la variation des ions H^+ et OH^- peut influencer la charge des Bactéries.

Pour une Bactérie donnée, l'auteur opère dans les limites où le pH

(1) Ce travail est inconnu pour un grand nombre de lecteurs, puisqu'il est seulement dactylographié.

des suspensions est optimum au développement. Voici les résultats obtenus pour les Bacilles d'EBERTH et de FLEXNER :

pH des suspensions	Vitesse en micro-seconde	
	Bacille d'Eberth	Bacille de Flexner
4,50	— 10,9	+ 11,2
5,20	— 9,2	+ 9,5
6,30	— 10,7	+ 11,7
8,50	— 11,5	+ 12,2

La charge varie donc peu pour des valeurs du pH allant de 4,5 à 8,5. Lorsque l'auteur opère dans des zones où les pH sont peu favorables à la vie des deux Bactéries expérimentées, le signe de la charge est le même; cependant la vitesse de transport, donc la valeur de la charge est beaucoup plus faible. N'y a-t-il pas là une cause d'erreur due à l'addition plus importante d'acide ou d'alcali? Pour éliminer cette possibilité d'erreur, il y aurait lieu d'étudier à ce point de vue de nombreuses Bactéries pour lesquelles le pH optimum de végétation est très différent. Sous ces réserves, nous indiquons ci-dessous la technique de l'auteur :

KOFMAN recouvre d'eau distillée une culture effectuée en boîte de PÉTRI. Il réalise ainsi une suspension sur laquelle il fait ses expériences. Par ce mode opératoire il est évident que les suspensions obtenues sont très riches en électrolytes. Réalisant une série de systèmes de pH variant de 1 à 15, KOFMAN constate, pour le Bacille d'EBERTH, une charge positive pour des valeurs du pH comprises entre 1 et 3,2 et une charge négative pour des valeurs comprises entre 3,7 et 15. D'après cela, le point isoélectrique du Bacille d'EBERTH serait compris entre 3,2 et 3,7. Quant au renversement du signe de la charge, c'était un fait déjà signalé. Nous signalerons enfin que dans son travail, KOFMAN envisage également l'influence de certains électrolytes sur le signe de la charge électrique des Bactéries.

Indiquons aussi que, dans les expériences de Stuart MUDD et E.-B.-H. MUDD (1924), les Bactéries traversent une paroi poreuse sous l'action de la cataphorèse. Ces savants utilisent une bougie BERKEFELD du type « V. ». La bougie est scellée au *goldsized* à la base d'un cylindre de verre. A l'autre extrémité du cylindre est fixé un bouchon muni d'une élec-

trode au charbon et de quatre tubes de verre; trois de ces tubes sont employés respectivement pour l'introduction de la solution tampon, pour égaliser la pression à l'intérieur et à l'extérieur. Au quatrième tube est scellé un fil de platine qui constitue l'électrode de platine. La différence de potentiel entre les électrodes varie de 10 à 70 volts. L'intensité du courant va de 0,02 à 0,1 ampères. En résumé, grâce à ce dispositif S. MUDD et E.-B.-H. MUDD ont pu faire passer à travers une paroi poreuse des Bactéries qui, sans l'intervention de la cataphorèse, n'auraient pas pu franchir des espaces capillaires aussi petits.

Indiquons enfin que Pierre GIRARD, à qui l'on doit de nombreuses recherches de chimie-physique appliquées à la Biologie, avec la collaboration de Marguerite LOURAU, a précisé en 1934 une méthode et une technique de l'électrophorèse des liquides organiques et mis en évidence les propriétés électriques de l'hémolysine et de l'agglutinine.

Afin d'éviter des répétitions, nous avons dû omettre dans ce chapitre d'analyser des Travaux souvent fort remarquables. Mais le Lecteur en trouvera l'analyse critique dans le chapitre IV qui traite des diverses applications du Transport électrique des Bactéries.

B) TRANSPORT DES GROSSES CELLULES ANIMALES ET VEGETALES

Etant donnée la place des Bactéries dans la systématique, nous étudierons après la charge des plastides bactériennes, celle des cellules végétales ou animales.

En 1896, VERWORN étudie le galvanotropisme des Paramécies et constate qu'à l'établissement du courant « *elles dirigent leur pôle antérieur vers la cathode* ». L'auteur a remarqué que les Infusoires et les Flagellés ne se comportent pas de la même façon dans un champ électrique; les uns se dirigent vers la cathode, les autres vers l'anode. Il serait ainsi possible, dans un mélange d'espèces microbiennes de séparer les types à « *galvanotaxie cathodique* » des formes à « *galvanotaxie anodique* » puisque ces deux groupes de micro-organismes se rassembleraient chacun au pôle correspondant du champ électrique.

MENDELSSOHN a montré qu'*Amoeba proteus* soumis à l'action d'un champ électrique émet des pseudopodes vers la cathode.

En 1899, BIRUKOFF étudie l'action du courant électrique sur les Para-

mécies et trouve que les Protozoaires sont, comme les grains de carmin, d'amidon et de lycopode, transportés à la cathode.

En 1905, CARLGREN reprend ses expériences de 1900 sur le galvanotropisme et la galvanotaxie des Protozoaires. Dans le galvanotropisme, l'auteur distingue un phénomène physique et un phénomène physiologique. Le phénomène physique serait une cataphorèse interne. En effet, à l'intérieur du Protozoaire, le liquide serait transporté de l'anode vers la cathode, provoquant un gonflement de l'animal vers le côté cathodique et un rétrécissement anodique.

Pour BANCROFT (1904-1907), le courant électrique aurait une action sur les cils des Paramécies. Cet auteur montre en outre qu'il est possible d'inverser le sens de la charge de ces Protozoaires par l'emploi d'électrolytes convenablement choisis. Dans une autre série d'expériences, BANCROFT indique que le sens du transport électrique varierait suivant que les Volvox mis en expérience seraient exposés ou non au rayon lumineux. A l'obscurité ou à la lumière diffuse, les animaux sont, d'après l'auteur, transportés à l'anode, mais s'ils sont exposés pendant un temps convenable au soleil, ils sont transportés à la cathode.

En 1910, THORNTON constate que les Diatomées, les Algues unicellulaires, les micro-organismes végétaux ont en général une charge positive, tandis que les Amibes et les micro-organismes animaux sont chargés négativement.

En 1913 COMANDON a étudié le transport des Trypanozomes de la Nana en suspension dans le sang de Souris. Le savant constate que les hématies se dirigent vers le pôle positif tandis que les Trypanozomes vont vers le pôle négatif et sont par conséquent *chargés positivement*. Les Spirochètes des Oiseaux, les Spirochètes de la fièvre récurrente auraient également une charge positive. Le Spirochète de la syphilis, *Treponema pallidum*, aurait au contraire une charge négative, qui serait d'ailleurs très faible. Mais les difficultés de culture de l'agent de la syphilis nous font penser que le Savant Physicien a peut-être opéré sur de la sérosité. Si ce fait est exact, il y a lieu de faire des réserves sur les résultats obtenus, les expériences ayant été effectuées sur un milieu relativement riche en électrolytes.

ALVERDÈS (1923) étudie à l'aide d'un dispositif microscopique le transport électrique des Paramécies. Le plus grand nombre des individus est transporté vers la cathode; mais tous ne se comportent pas de la même façon.

Paul GOVEARTS (1923) s'inspire d'un travail de CANTACUZÈNE et

VLÈS (1) (1922), dans lequel ces auteurs ont montré que les urnes chez les Siponcles exercent vis-à-vis des particules en suspension une action agglutinante sélective paraissant subordonnée à des facteurs électriques. GOVEARTS recherche si des phénomènes analogues interviennent dans l'accolement des microbes aux plaquettes sanguines.

L'auteur utilise l'appareil décrit par NORTHROP et CULLEN. Se souvenant que la charge électrique des microbes est largement réduite par la présence de chlorure de sodium (NORTHROP et DE KRUIF, 1922), GOVEARTS emploie un liquide pauvre en électrolytes. Dans ces expériences, les plaquettes et le Colibacille ont des charges négatives.

Jusqu'aux travaux de G. YAMAHARA et T. ISHII (1932-1933), on ne pouvait prévoir si les noyaux des cellules soumis à l'action d'un champ électrique étaient susceptibles d'être transportés à l'un ou à l'autre des pôles. Les savants japonais agitent dans l'eau une coupe effectuée dans une tige de *Gastrodia elata*. Dans ces conditions d'expérience, de nombreux noyaux et des chromatophores entrent en suspension dans l'eau. Les petits noyaux se déplacent facilement vers l'une ou l'autre électrode suivant le pH du liquide dispersif. Chez les grands noyaux, le transport électrique est accompagné d'un changement de forme de l'élément anatomique. Les chromoplastes soumis à l'action d'un champ électrique, sont transportés également. G. YAMAHARA et T. ISHII montrent que pour un pH de 4,9, noyaux, cellules et chromoplastes sont transportés à l'anode; pour un pH de 3,9 le noyau ne subit aucun transport, tandis que le chromoplaste se dirige encore vers l'anode. Le sens du transport du noyau est renversé pour $\text{pH} = 3,5$; le noyau est donc transporté vers la cathode, tandis que le chromoplaste continue à l'être vers l'anode. C'est vers la cathode que vont noyaux et chromoplastes lorsque le pH est égal à 3.

Par l'examen de ces résultats, on voit immédiatement que noyaux et chromoplastes n'ont pas le même point isoélectrique. Dans d'autres expériences, les leucoplastes se comportent sensiblement comme les chromoplastes; le renversement du signe de la charge s'obtient cependant à un pH moins acide. Les auteurs observent des faits analogues lorsqu'ils expérimentent sur *Chara* et *Chlorella*.

A. GUILLIERMOND, avec Mlle CHOUCROUN (1936) ont étudié à l'aide d'un dispositif spécial décrit par Mlle CHOUCROUN en 1933, l'action d'un champ électrique sur une cellule végétale, particulièrement sur les cel-

(1) VLÈS (1929), dans son excellent précis de chimie physique, consacre quelques lignes à la cataphorèse des Bactéries et des cellules animales et végétales.

lules épidermiques d'*Allium cepa*. Ces Savants ont fait une constatation au moins inattendue : « *La cellule, tant qu'elle est vivante, protège ses éléments intérieurs contre l'établissement d'un champ électrique imposé par l'extérieur.* » Tant que la cellule est vivante, aucun mouvement ne se produit dans son intérieur sous l'action du champ électrique. Il y aurait là, pensent M. GUILLIERMOND et Mlle CHOUCROUN, une « *défense de la matière vivante* ».



CHAPITRE IV

Applications du transport électrique

A) RESUME PRELIMINAIRE SUR LA THEORIE DE L'AGGLUTINATION

Avant d'étudier dans le détail le rôle de la charge dans l'agglutination, nous croyons utile, pour plus de compréhension, de commencer par exposer ce qu'est l'agglutination ou plutôt de faire un résumé de l'état actuel de la question.

Ainsi que le rappelle Ph. LASSEUR, l'agglutination sérique des Bactéries a été décrite pour la première fois par CHARRIN et ROGER. Ces Savants, dans leur note du 4 novembre 1889, relatent les résultats obtenus en ensemençant du Bacille pyocyanique, d'une part dans du sérum de Lapin normal, et d'autre part dans du sérum de Lapin vacciné.

Pour expliquer le phénomène, on a émis de nombreuses hypothèses; on l'a d'abord attribué à la *glabrificine* (hypothèse du gonflement de GRUBER et DURHAM, 1896). Cette substance aurait en effet la propriété de gonfler les membranes. ROGER s'est efforcé de vérifier ces faits dans son mémoire intitulé: « *Les infections non bactériennes. — Recherches sur l'Oïdo-mycose* » (1896). L'examen des figures publiées par ROGER ne laisse aucun doute sur l'exactitude de la gélification des éléments du Champignon mis en expérience.

Ce fait n'est malheureusement pas susceptible de généralisation. C'est ainsi qu'il est possible d'agglomérer des spores, des plastides bactériennes, sans que l'on puisse constater des modifications morphologiques de la membrane de l'élément bactérien.

Remarquons toutefois que dans sa belle étude des agglutinations flagellaire et somatique, A. PIJPER (1938) aurait constaté lui aussi, un épaississement de la membrane des Bactéries.

Dans une deuxième hypothèse, l'agglutination serait due à un enchevêtrement des fouets,

Le rôle des fouets dans l'agglutination paraissait d'autant plus probable que les Bactéries hautement agglutinogènes sont en même temps celles qui possèdent des fouets moteurs en plus grand nombre et les plus développés. Là encore, nous ne pouvons pas généraliser, puisque les spores microbiennes par exemple, dépourvues d'organes moteurs, les Levures, les hématies, etc... peuvent être agglomérées sous l'action d'un sérum spécifique.

Sous ces réserves, remarquons que les figures publiées récemment par PIPPER montrent souvent un épaississement des fouets. Dans tous les cas, l'idée d'enchevêtrement paraît justifiée.

Enfin PALTAUF (1897) et LÆWIT (1930) émettent une troisième hypothèse: la substance agglutinable diffuse dans le liquide dispersif. Sous l'action de l'agglutinine, il y aura formation d'un coagulum, d'un réseau dont les mailles engloberaient toutes les particules en suspension, c'est-à-dire les plastides.

Rappelons l'image du filet qui emprisonne les poissons; ce réseau engloberait tous les éléments bactériens. Sa présence n'a pu être vérifiée par Ph. LASSEUR et A. DUPAIX-LASSEUR (1934) qui, cependant, ont montré l'entraînement de plastides hétérologues dans l'agglutination homologue.

L'hypothèse d'un coagulum emprisonnant dans ses mailles les éléments bactériens n'est pas qu'une simple vue de l'esprit, car les photographies de PIPPER, obtenues en champ sombre, à l'aide de condenseur cardioïde, montrent des réseaux. Dans quelle mesure ces réseaux correspondent-ils à un artifice de préparation, c'est une question à laquelle nous ne pouvons répondre.

Nous arrivons maintenant à l'explication physico-chimique du phénomène de l'agglutination. Par analogie avec ce qu'on a décrit dans l'histoire des suspensoïdes, **nous envisagerons tout d'abord les facteurs de stabilité et d'instabilité des suspensions microbiennes et ensuite nous aborderons le mécanisme proprement dit de l'agglutination.** Pour cela, nous ferons de larges emprunts à l'important mémoire publié par Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1930) dans *Arch. für Mikrobiologie*, Band 1, Heft 1, 1930, p. 137-164. Ce mémoire est un magnifique exposé de la question en 1930 que nos lecteurs pourront parcourir avec fruit.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous étudierons tout d'abord les *facteurs de stabilité*, et cela nous conduit à envisager successivement **le mouvement vital, le mouvement brownien, la charge électrique, l'action des ions à charge positive, les forces de cohésion, la sphère d'attraction, le choc, la viscosité, les substances stabilisantes, les di-**

mensions des particules dispersées, le chauffage des suspensions, le pH des suspensions, la mouillabilité, le rôle des parois. Le Lecteur pourra trouver longue cette énumération de facteurs d'action. Il ne faut pas oublier cependant que le fait biologique n'est pas un fait simple, et que même en faisant intervenir de nombreuses variables, nous en omettons certainement encore. Nous ne pouvons donc pas avoir la prétention de donner une théorie générale du phénomène; nous croyons pouvoir en donner une approximation.

Facteurs de stabilité et d'instabilité des suspensions bactériennes

MOUVEMENT VITAL.

Considérons l'exemple de suspensions bactériennes douées de mouvements vitaux et distribuées dans des vases exposés à l'air libre. Dans ces systèmes, la répartition des plastides dépend des besoins de la Bactérie en oxygène. Le germe aérobie se dirige vers la surface de la masse liquide, tandis que les microbes anaérobies restent dans les parties profondes de la couche liquide. Par suite, l'homogénéité primitive des suspensions est rapidement détruite. Il est à remarquer que cette cause d'hétérogénéité diminue d'intensité à mesure que la vitalité des plastides s'affaiblit pour disparaître même chez les germes morts.

MOUVEMENT BROWNIEN.

Qu'il s'agisse de filaments, d'amas réguliers, ou de colonies élémentaires irrégulières, il est toujours possible, par un traitement convenable, de dissocier les plastides et d'obtenir une suspension formée d'éléments isolés ou de couples de plastides. Les propriétés de ces suspensions varieront avec la taille des éléments microbiens. Considérons l'exemple de Cocci mesurant de 0,5 à 1 μ de diamètre. A l'échelle microscopique et à condition d'opérer sur une couche de liquide suffisamment épaisse, on observe des éléments bactériens isolés, animés d'un mouvement brownien d'autant plus rapide que les plastides sont plus petites.

Lorsqu'on expérimente sur le produit de broyage des plastides, la phase dispersée est représentée par des fragments de plastides qui sont évidemment animés par un mouvement irrégulier extrêmement vif. Lorsque l'on considère l'agitation des particules voisines, on se demande pourquoi deux fragments de plastides n'arrivent pas à se rencontrer et

à s'accoler; en d'autres termes, pourquoi ces suspensions restent homogènes. Cette constatation peut très bien faire penser à l'existence de forces antagonistes s'opposant au choc de deux particules. Ceci nous conduit à l'étude d'une de ces forces: la charge électrique.

CHARGE ÉLECTRIQUE.

HARDY pense qu'une solution colloïdale, pour être stable, doit posséder une charge électrique. Si on annule la charge, les particules se réunissent en flocons; cette floculation aurait lieu au point isoélectrique (HARDY). C'est une première approximation. En effet, en 1915, POWIS démontre qu'il n'est pas nécessaire de priver complètement les particules de leur charge pour déterminer la floculation. Il suffit pour cela d'abaisser la différence de potentiel à la surface de contact jusqu'à une certaine valeur que POWIS appelle *le potentiel critique*. Une « émulsion d'huile avait une différence de potentiel à la couche électrique de contact, égale à 46 millivolts; si on abaissait cette différence de potentiel à 30 millivolts, on produisait la réunion de gouttes de telle sorte qu'il en résultait une séparation d'avec l'eau » (in H.-R. KRUYT, p. 78, 1933). KRUYT considère les particules colloïdales comme étant protégées contre les chocs mutuels par la charge électrique de la double couche. Les particules de la phase dispersée animées d'un mouvement brownien très vif peuvent s'approcher très fréquemment les unes des autres « mais les sphères de leur potentiel électrique ne se pénètrent pas, en raison des signes identiques de leur charge ». Les particules ne peuvent donc pas s'aggréger entre elles. « S'il n'y avait pas de charge, de chaque rencontre il devrait résulter une union de particules; dans ce cas, la probabilité d'adhésion, c'est-à-dire le rapport du nombre d'adhésions au nombre total de chocs serait égal à l'unité. Mais si le potentiel de la couche de contact atteint une certaine valeur, les chocs n'amèneront, en général, aucun résultat. Seules les particules qui ont une grande vitesse pourront pénétrer dans la sphère répulsive et donner lieu à une adhésion. »

Nous allons maintenant examiner le cas de plastides bactériennes. Considérons des corps bactériens lavés, donc débarrassés de toutes traces de milieux de culture et mis en suspension dans l'eau distillée; ils se dirigent vers l'anode lorsqu'on les soumet à l'action d'un champ électrique.

ACTION DES IONS A CHARGE POSITIVE.

On retrouve une confirmation de cette charge négative dans

la précipitation des suspensions bactériennes par les ions à charge positive (H^+ , Al^{+++} , Fe^{+++} , etc...). Considérons une espèce bactérienne déterminée et deux plastides quelconques de cette espèce; elles sont douées de charge électrique de même signe et par conséquent elles tendent à se repousser. En première approximation on peut supposer (1) que cette répulsion préserve les particules d'un contact mutuel et incessant. Mais la charge électrique n'est pas immuable. Par fixation d'ions positifs, on la diminue et l'on constate que les forces de répulsion diminuent également. Pour un potentiel égal à 0, celles-ci ne se manifestent plus. Si on continue à fixer des ions positifs sur de telles plastides, elles passent à un potentiel positif et les forces de répulsion réapparaissent. En résumé, par addition convenable d'ions positifs, la stabilité de la suspension bactérienne décroît, passe par un minimum, puis croît à nouveau. Remarquons en passant que c'est à un phénomène de ce genre que LASSEUR et ses Collaborateurs attribuent l'agglutination anormale ou phénomène de « *Vorzone* ».

Nous venons de voir comment se comportent les plastides bactériennes en présence d'ions H^+ . Mais que deviennent des suspensions bactériennes auxquelles on ajoute des quantités croissantes d'ions OH^- ?

Les ions à charge négative ne doivent pas modifier l'homogénéité de la suspension. LASSEUR et ses Collaborateurs ont étudié cette addition d'ions OH^- aux suspensions bactériennes; signalons qu'en pratiquant ces recherches, ces auteurs se sont aperçus que l'apport d'ions OH^- diminue considérablement l'opacité des suspensions; ce fait proviendrait de l'hydratation des plastides.

Envisageons maintenant un autre facteur d'action dans l'agglutination: les forces de cohésion.

FORCES DE COHÉSION: FORCES CAPILLAIRES,

TENSION SUPERFICIELLE, TENSION INTERFACIALE

Nous avons admis l'existence d'une force de répulsion maintenant les plastides éloignées, mais on peut imaginer tout aussi bien la présence d'une force qui tende à les rapprocher. C'est ce que P. DE KRUIF et J.-H. NORTHROP (1921-1922) et J.-H. NORTHROP (1928) se sont efforcés de démontrer expérimentalement. A cet effet, des lames porte-objets étaient légèrement chauffées pour permettre aux plastides d'adhérer au verre. Ces lames porte-objets barbouillées de purée micro-

(1) Par analogie avec ce que l'on observe dans les suspensions colloïdales.

biennes étaient appuyées l'une contre l'autre, les enduits microbiens face à face. Elles étaient ensuite introduites deux par deux dans des solutions d'électrolytes de concentration donnée. A l'aide d'une balance de torsion, on déterminait la force nécessaire pour séparer deux lames. Les mesures étaient évidemment grossières; l'auteur lui-même en souligne le caractère très approximatif. Cependant les résultats se reproduisent d'une façon constante, toujours dans le même sens. L'hypothèse des forces d'attraction au sens de NORTHROP et de J. DE KRUIF ne paraît donc pas être une vue de l'esprit. Les forces d'attraction sont d'ailleurs bien connues depuis les beaux travaux de BECHHOLD et de ses Collaborateurs, sur l'adsorption des Bactéries par les particules les plus diverses (charbon activé, granules de silice gélatineuse, granules d'oxyde d'alumine, etc...). Le Bactériologiste peut se convaincre facilement de la réalité des forces d'attraction, lorsqu'il suit au microscope la formation d'amas réalisée sous l'influence de sérum agglutinant, notamment dans l'agglutination des germes mobiles tels que *B. balticus*, *B. chlororaphis*, *B. pyocyaneus*. Pour être suggestive, cette expérience doit être réalisée avec quelques précautions. C'est ainsi qu'il ne faut opérer que sur des systèmes présentant une vitesse d'agglutination assez lente. Sans cela on risquerait de rendre inaperçues les forces de cohésion. Pour avoir une expérience concluante, on prépare par exemple un mélange agglutinant susceptible de donner de gros amas en 30 ou 40 minutes. Si on examine au microscope la suspension 5, 10, 15, 20 minutes après l'addition de sérum agglutinant, on constate au bout d'un certain temps la présence d'amas de grandeur moyenne, amas immobiles, du moins n'offrant pas de mouvements de translation. A côté de ces agglomérats, nous notons la présence de plastides isolées très mobiles. Certaines plastides passent à côté d'un amas, s'en vont au loin, puis reviennent, repassent près de l'amas sans que leur marche paraisse influencée par la proximité de l'agglomérat de plastides. Mais si l'élément mobile passe assez près de l'amas, on le voit brusquement être happé au passage. La plastide vient se coller contre l'amas. Elle se fixe tantôt par un pôle, tantôt par un grand côté. Dans le premier cas, l'extrémité libre de la plastide continue à décrire un cercle qui serait la circonférence de base d'un cône de révolution ayant pour pôle l'extrémité accolée de la plastide. Lorsque le germe est fixé par son grand côté, deux cas peuvent se présenter: ou bien il est définitivement fixé, ou bien on assiste à un spectacle fort curieux. La plastide paraît comme secouée par un tremblement; après quelques efforts, elle s'arrache de l'amas et reprend sa course vagabonde. Mais le plus souvent, la plastide va se fixer à nouveau, cette fois définitivement, soit au même amas, soit à un amas voisin.

L'existence d'une force d'attraction dans les suspensions bactériennes ne paraît donc pas pouvoir être mise en doute. Cette force d'attraction a-t-elle une grandeur constante? Il est bien difficile de répondre à cette question. En effet, si tout le monde est d'accord pour admettre que la charge varie, l'accord est loin d'être fait en ce qui concerne les forces d'attraction. C'est ainsi que, pour FREUNDLICH (1928), la force d'attraction est constante; par contre, BILLITZER (1905), SMOLUCHOWSKI (1916) estiment que la force d'attraction croît en raison inverse du potentiel. Pour BILLITZER, BREDIG, la tension superficielle passe par un maximum quand la différence de potentiel tend vers le minimum (phénomène de LIPPMANN). En ce qui concerne les suspensions bactériennes, il semble bien que la force d'attraction ne soit pas constante; c'est du moins ce qui ressort des expériences effectuées par J.-H. NORTHROP (1922-1923).

SPIÈRE D'ATTRACTION.

Il est bien évident que les forces d'attraction ne peuvent se manifester que dans un certain rayon r . Le mouvement brownien des plastides, le mouvement vital, le mouvement de translation ne seront donc pas modifiés tant que l'éloignement des plastides sera supérieur à r .

CHOC.

Certains éléments bactériens peuvent heurter de nombreux amas avant d'être définitivement fixés. D'autres restent accolés au premier choc. Ce fait s'expliquerait facilement si cette fixation était due soit à une action tricholytique du sérum, soit à un accolement visqueux, soit encore à l'enchevêtrement des fouets.

Dans les remarquables expériences de PIPPER (1938), l'enchevêtrement des fouets est incontestable et les amas formés par les Bactéries munies de fouets ont un aspect absolument différent des figures d'agglutination que fournissent les mêmes Bactéries dépourvues de fouets. Dans le dernier cas, les Bactéries restent accolées bout à bout, constituant des sortes de chaînes qui s'enchevêtrent souvent et où les plastides n'arrivent jamais à être pressées les unes contre les autres comme cela s'observe avec l'agglutination flagellaire.

Cette hypothèse de l'enchevêtrement des fouets ne rend pas compte de tous les faits observés. Ainsi certaines plastides fixées par un pôle effectuent des mouvements que nous avons décrits. De plus, les petits amas sont souvent animés de mouvements de rotation et de translation; enfin

les plastides situées à la périphérie de ces amas semblent jouer le rôle de moteurs pour ces amas. Il faut donc faire appel à une autre notion, celle de « choc », dans les agglutinations. En chimie-colloïdale, FREUNDLICH, ZSIGMONDY admettent que les particules dont la charge a été abaissée par fixation d'ions positifs jusqu'à une valeur critique de la différence de potentiel ne se réunissent d'une manière irréversible que si leur rencontre se produit avec une vitesse supérieure à une vitesse minimum critique. « *Les chocs avec une vitesse inférieure restent sans action.* » Les choses paraissent se passer ainsi dans l'agglutination sérique des Bactéries. Si en effet, après un choc léger, les plastides ne se détachent pas toujours de l'amas qu'elles avaient rencontré, par contre, les plastides précipitées avec violence contre l'amas sont en général fixées définitivement.

VISCOSITÉ.

La vitesse de déplacement des plastides est évidemment sous la dépendance de la viscosité de la suspension. Les suspensions bactériennes sont effectuées avec des éléments provenant de culture sur gélose. Par suite, la viscosité des suspensions est, en partie, du moins, fonction du nombre et de la nature des lavages. Certaines Bactéries peuvent donner des cultures très visqueuses. Or, les suspensions effectuées avec ces cultures jouissent d'une telle stabilité qu'il est impossible de les précipiter par les sérums agglutinants. Dans un autre ordre d'idées, la précipitation sérique exigeant évidemment l'apport de sérum en quantité éminemment variable puisque fonction du pouvoir agglutinant du sérum, il est bien évident que la viscosité de la suspension dépendra de la concentration du mélange en sérum agglutinant. Ainsi se dessine le rôle des fortes concentrations de sérum dans la production des « *Vorzones* », c'est-à-dire des zones pour lesquelles on n'observe pas d'agglutination, malgré la présence d'antigène et d'anticorps homologues.

SUBSTANCES PROTECTRICES ET SUBSTANCES STABILISANTES.

On sait depuis les recherches de Michel FARADAY (1857) que différentes substances peuvent accroître la stabilité des suspensions et les protéger contre l'action précipitante de différents agents. L'étude approfondie de ces phénomènes de protection montre que la stabilisation ne s'effectue que dans des conditions déterminées. Dans d'autres conditions, au contraire, ces mêmes substances dites protectrices diminuent la stabilité des suspensions ; la sensibilité de la phase dispersée à l'action des

agents coagulants est donc augmentée. C'est la raison pour laquelle on réunit sous le nom de sensibilisation de FREUNDLICH l'ensemble de ces phénomènes.

Considérons le cas d'une solution colloïdale hydrophobe à laquelle on ajoute des quantités croissantes de colloïdes hydrophiles ou stables. Nous observons les phénomènes suivants :

- 1° Un accroissement de l'instabilité du colloïde hydrophobe ;
- 2° Les quantités de colloïdes hydrophiles augmentant, la stabilité du colloïde hydrophobe croît ;
- 3° Avec des fortes concentrations en colloïdes hydrophiles, il y a floculation réciproque des deux colloïdes.

Revenons dans le détail de chacun de ces stades.

1° PAULI et FLECKER (1912) d'une part, BROSSA et FREUNDLICH (1915) d'autre part ont montré que l'addition d'une petite quantité d'une solution d'albumine bien dialysée à un hydrosol d'hydrate ferrique augmente l'instabilité de ce dernier, c'est-à-dire, le rend plus sensible à l'action précipitante des électrolytes.

2° Opérons maintenant dans des zones de concentration plus riches en colloïdes hydrophiles. Dans ces conditions, on n'observe généralement aucune modification apparente du système, mais « *la dispersion la moins stable devient la plus stable* ». Le mélange est beaucoup moins sensible à l'action précipitante des électrolytes que la suspension non additionnée de colloïde hydrophile. Elle est protégée contre l'action précipitante des électrolytes. La dispersion hydrophobe est donc protégée par le colloïde hydrophile, d'où les expressions de « *phénomène de protection* » données à l'ensemble de ces processus et de « *colloïdes protecteurs* » communément appliquées aux colloïdes hydrophiles tels que gélatine, albumine, gomme arabique, etc...

Tous les auteurs sont d'accord pour attribuer la découverte de l'action protectrice à Michel FARADAY (1857). L'illustre physicien a remarqué que l'addition de gélatine à des dispersions d'or colloïdal les rendait si stables qu'il était possible de les évaporer à sec sans en modifier la couleur. Cette protection peut s'expliquer par la théorie de l'enveloppe émise par BECHOLD en 1907.

3° Dans certains cas enfin, l'addition de fortes concentrations de col-

loïde hydrophile suffit à coaguler le sol hydrophobe (même en l'absence d'électrolytes).

Il est un autre phénomène qui doit jouer un rôle considérable dans l'ensemble des processus vitaux : c'est celui qui fut décrit par A. BOUTARIC. Le célèbre physicien attire l'attention sur un fait très curieux : « *La protection qu'exerce l'introduction de faibles quantités d'un électrolyte contre la floculation produite par des doses plus fortes du même électrolyte* » (in BOUTARIC). Le Lecteur non prévenu tendra à identifier ce phénomène avec l'augmentation de sensibilité que détermine l'addition de très faibles quantités d'un colloïde hydrophile (PAULI et FLECKER, BROSSA et FREUNDLICH, car la protection réalisée sur le colloïde dépend de la « *dose préparante* » introduite. Mais il y a une différence fondamentale, entre les deux processus ci-dessus. En effet, le phénomène de BOUTARIC nécessite un « *temps d'incubation* ».

Ph. LASSEUR, A. DUPAIX et C. MAGUITOT ont appliqué le phénomène de BOUTARIC à la stabilisation des solutions colorantes. Cette stabilisation n'est pas éphémère et passagère puisque depuis huit ans, les solutions stabilisées ont conservé leur même pouvoir tinctorial. Or, pour réaliser cette stabilisation, il ne suffit pas d'ajouter des quantités croissantes d'acide phénique, il est absolument indispensable de laisser un certain laps de temps entre chaque apport d'acide phénique. L'augmentation de stabilité n'est donc pas instantanée. Il y a là quelque chose, comme le fait justement remarquer M. le Professeur BOUTARIC, qui rappelle la vaccination des animaux contre un agent infectieux.

Nous venons de décrire toute une série de faits se rapportant à l'augmentation de la stabilité de certaines dispersions. La stabilisation des suspensions bactériennes offre une importance capitale dans l'étude de l'agglutination. LASSEUR et ses Collaborateurs (LASSEUR, DUPAIX, OLIVIER) (1931), étudiant l'influence du pH sur l'agglutination sérique des Bactéries n'ont pas constaté la formation de précipités dans les suspensions de pH de l'ordre de 10. La chute du pouvoir agglutinant augmente à mesure que croît l'alcalinité.

UNE DIFFICULTÉ. — Lorsqu'on ajoute des quantités croissantes d'ions OH— à des suspensions bactériennes non additionnées de sérum, on constate que ces suspensions diminuent d'opacité. Cette diminution varie avec l'espèce considérée et avec la teneur en ions OH—. Dans certains cas, elle est instantanée ; dans d'autres cas, elle n'est sensible qu'après quelques

minutes ou quelques heures de contact. La diminution du trouble peut être de l'ordre de 15 à 20 % et peut même atteindre 60 %. La première objection qui vient à l'esprit est que si LASSEUR et ses Collaborateurs n'ont pas observé d'agglutination, cela tient tout simplement à ce que l'hydratation des plastides diminue l'opacité des suspensions. Les auteurs ont éliminé cette cause d'erreur en examinant les systèmes à l'ultra-microscope. Dans ces conditions d'expérience, on retrouve des plastides plus ou moins altérées; certaines sont peptisées, mais le plus grand nombre se présente sous la forme de bâtonnets. Les éléments bactériens ne sont jamais réunis en amas. Ils restent isolés. Les ions OH^- ont donc stabilisé les suspensions bactériennes et les ont rendues insensibles à l'action des sérums agglutinants, la stabilisation des suspensions bactériennes par les ions OH^- étant en définitive un exemple de l'influence du pH dans l'agglutination sérique des Bactéries. Les expériences effectuées par Ph. LASSEUR, A. DUPAIX et OLIVIER sur différentes Bactéries montrent que l'agglutination ne s'observe pas pour des valeurs du pH inférieures ou égales à 3,42 pour *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX, inférieures ou égales à 2,26 pour *B. chlororaphis*. Lorsqu'on fait varier le pH des systèmes agglutinants, ces deux Bactéries se comportent d'une façon très différente. Avec *B. chlororaphis*, on observe d'abord une zone de non agglutination qui s'étend de $\text{pH} = 2,10$ à $\text{pH} = 2,26$; on note ensuite une zone d'agglutination comprise entre $\text{pH} = 2,98$ et $\text{pH} = 8,54$; enfin il n'y a pas d'agglutination aux environs de $\text{pH} = 11$.

Avec *B. caryocyaneus* on assiste à un phénomène inverse. C'est l'apparition d'une zone stable entre deux zones agglutinées. Les plastides sont en effet agglutinées par le sérum de $\text{pH} : 3$ à $\text{pH} : 3,55$ tandis que les suspensions additionnées de sérum homologue restent homogènes de $\text{pH} : 3,78$ à $\text{pH} : 3,95$. L'agglutination apparaît de nouveau à partir de $\text{pH} = 4,50$ pour se continuer tant que la concentration en ions H^+ n'est pas trop élevée.

Nous voyons donc que l'agglutination est un phénomène très complexe; il apparaît difficile de la ramener à un schéma par trop simplifié. Il est évidemment possible de dire en ce qui concerne *B. caryocyaneus* que la zone de stabilisation comprise entre $\text{pH} : 3,78$ et $\text{pH} : 4$ peut s'expliquer soit par une augmentation de la différence de potentiel, soit par une diminution des forces d'attraction. Cette explication semble naturellement découler de la conception sur la dissociation des protéines que nous empruntons à THOMAS (1928): au point isoélectrique, une protéine est ionisée, mais « elle est dissociée en fournissant autant d'anions que de cations et quand l'alcalinité (ou l'acidité) augmente, son degré de disso-

ciation basique (ou acide) diminue ainsi que sa capacité de combinaison avec les acides (ou avec les bases) ». On conçoit que l'agglutination puisse, suivant les suspensions bactériennes expérimentées, offrir des minima de fixation variables avec le pH considéré.

DIMENSIONS DES PARTICULES DISPERSÉES.

Suivant que l'on étudie l'agglutination sérique des Bactéries (phénomène de CHARRIN et ROGER) ou la précipitation des filtrats bactériens (phénomène de KRAUS et NICOLLEJ, on expérimente sur des éléments de dimensions très différentes. C'est ainsi que dans l'agglutination, la phase dispersée est représentée par des cellules (Levures) et des plastides (Bactéries) dont les dimensions sont de l'ordre de 1 à 5 μ , tandis que dans le phénomène de KRAUS et NICOLLE les dimensions de la phase dispersée sont de l'ordre de 1/10 de μ .

Dans ces différents cas, les facteurs d'action n'interviennent pas de la même façon. Par exemple, avec les petites particules, on observe un mouvement brownien extrêmement vif qui assure ainsi durant un temps très long l'homogénéité de la suspension. Par contre, dans les suspensions formées de cellules de Levures ou de longs bâtonnets, le mouvement brownien est à peine sensible ou nul et nous assistons à une sédimentation rapide des cellules de Levure et à une sédimentation assez rapide lorsque les Bactéries ne sont pas douées de mouvements vitaux.

CHAUFFAGE DES SUSPENSIONS.

De nombreuses recherches et en particulier, celles de EISENBERG et VOLK (1902), JOOS (1903), Ph. LASSEUR et NOBLAT (1928), Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1929-1930) ont montré que le chauffage à 80° C. de certaines suspensions bactériennes peut augmenter leur stabilité à tel point qu'elles résistent à l'action précipitante du sérum homologue. Il s'agit bien d'une augmentation de stabilité et non d'une altération grave des plastides. Ces dernières ont en effet conservé la faculté de fixer l'agglutinine. De plus, le chauffage à une température plus élevée, à 100° C. par exemple, n'augmente pas sensiblement la stabilité des suspensions bactériennes qui restent précipitables par le sérum homologue. Le chauffage à 100° peut même augmenter l'instabilité des suspensions bactériennes (BURNET et BÉGUET).

pH DES SUSPENSIONS.

La charge électrique des Bactéries et la concentration en ions H^+ de la suspension sont évidemment en étroite corrélation. Considérons une plastide bactérienne de charge négative. Fixons sur cette plastide des quantités croissantes d'ions H^+ . Nous constatons que la charge diminue, passe par une valeur nulle et change de signe, si bien que nous observons la précipitation et la stabilité.

MOUILLABILITÉ.

Il est évident qu'un liquide ne peut être adsorbé par un solide qu'à la condition que ce liquide mouille le solide. Les Bactéries sont très facilement mouillées par l'eau. Mais les Microbiologistes n'opèrent pas que sur les Bactéries. C'est ainsi que les spores de Champignons sont très difficilement mouillables par l'eau. On tourne cette difficulté en ayant recours à différents artifices. Certains auteurs mettent les spores en présence d'eau bouillante afin de déplacer le film d'air qui entoure la spore. D'autres expérimentateurs soumettent les spores à un traitement préalable par l'alcool. Ainsi traitées, celles-ci sont mouillables par l'eau. Les spores non mouillables restent le plus souvent à la surface de l'eau et il est impossible, dans ces conditions d'obtenir une suspension homogène.

ROLE DES PAROIS.

L'adsorption, avons-nous vu, est à la base des réactions anticorps comme elle est à la base des réactions catalysées. Or, l'adsorption est une propriété de surface; par suite, les parois des vases peuvent jouer un rôle dans les réactions anticorps. C'est ce qu'il est permis d'observer souvent lorsqu'on effectue des opérations en double; on remarque que l'agglutination se produit rapidement dans des tubes usagés alors que souvent elle fait complètement défaut dans des tubes neufs (préalablement lavés évidemment). LASSEUR a toujours apporté une très grande attention à cette cause d'erreur qui a certainement entaché de nombreux travaux.

*
**

Nous venons d'envisager les différents facteurs de stabilité des suspensions bactériennes. Nous allons maintenant essayer d'esquisser une théorie partielle du mécanisme de l'agglutination sérique des Bactéries

Théorie partielle du mécanisme de l'agglutination

Nous rappellerons que l'on avait ramené l'agglutination :

1° A une neutralisation de la charge des plastides. Au point iso-électrique, les forces de répulsion étant nulles, les « *forces d'attraction* » déterminent l'agglomération des plastides. Pour que l'agglutination se produise, il suffit donc que les plastides déchargées entrent dans la « *sphère d'attraction* » soit par suite du mouvement vital, soit par suite du mouvement brownien, des courants de convection, de l'agitation, etc...

2° A un abaissement de la charge au-dessous d'une valeur critique. Nous avons vu que les plastides agglomérées en petits amas (Ph. LASSEUR et A. DUPAIX) se dirigent vers l'anode : leur charge n'est donc pas nulle. J.-H. NORTHROP (1922) a montré dans des expériences paraissant bien conduites, que l'agglutination sérique du Bacille typhique se produit déjà pour des différences de potentiel de 13 à 15 millivolts. L'observation de NORTHROP n'est pas un fait isolé dans l'histoire des suspensions ni dans celle de l'agglutination des Bactéries. Il est curieux de constater qu'avec des particules aussi différentes qu'un globule de colloïdion, une gouttelette d'huile, une plastide bactérienne, on obtienne des nombres qui sont relativement du même ordre de grandeur ainsi qu'on peut s'en rendre compte par l'examen du tableau de la page 310 de la thèse de A. DUPAIX (1).

On s'explique pourquoi certains auteurs ont ramené l'agglutination à une modification de la charge électrique. Un fait semble donc général : *l'agglutination correspond à un abaissement de la différence de potentiel*. C'est une première approximation. Etudions de plus près cet abaissement de la charge dans l'agglutination et nous constatons que l'on peut considérer deux stades dans la variation de la charge électrique :

1° Un abaissement presque instantané de la différence de potentiel jusqu'à une certaine valeur, variable avec les systèmes considérés..

2° Un second abaissement, à partir de cette valeur, qui se produit lentement et qui est toujours beaucoup moins important que le premier.

Ces faits sont nettement mis en évidence dans les belles expériences de Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1932) sur l'agglutination sérique de *B. caryocyanus* BEIJERINCK-DUPAIX. Dans le Tableau I on verra les

(1) Imprimerie Le François, 91, boulevard Saint-Germain, Paris.

résultats donnés par ces auteurs. D'après eux, on voit que l'influence du temps de contact est plus sensible avec la forte qu'avec la faible concentration en électrolytes.

TABLEAU I

Désignation des systèmes	Dilution du sérum agglutinant	Concentration en NaCl (en milligr. par litre)	Temps de contact	Différence de potentiel en millivolts
T ₁		50		54,8
A	1/1.000	50	} 0 15 minutes	36,5
T ₂		100		31,3
C	1/1.000	100	} 0 15 minutes	49,7
				37,9
				27,4

Par temps 0, les auteurs entendent les mesures faites immédiatement après le mélange.

Il est à remarquer d'autre part, que la fixation de l'agglutinine sur la plastide en l'absence de tout apport d'électrolyte ne modifie pas d'une façon importante la différence de potentiel. Pour déterminer cette chute, il est indispensable de faire intervenir la fixation d'ions positifs. C'est ce qui ressort nettement des nombres du Tableau II emprunté aussi aux expériences de Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1932) sur l'agglutination sérique de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX.

TABLEAU II

Désignation des systèmes	Dilution du sérum agglutinant	Concentration en NaCl (en milligr. par litre)	Différence de potentiel (en millivolts)	Aspect des systèmes
A	1/1.000	50	31,3	Très fin précipité
C	1/1.000	100	27,4	Très fin précipité

L'abaissement de la charge est par conséquent en relation étroite avec la concentration des systèmes en NaCl.

Dans d'autres expériences effectuées également par Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1932), sur l'agglutination de *B. caryocyaneus*, l'addition du sé-

rum agglutinant détermine un abaissement important de la différence de potentiel. C'est ce que montre le Tableau III.

TABLEAU III

Désignation des systèmes	Dilution du sérum agglutinant	Concentration en NaCl (en milligr. par litre)	Différence de potentiel	Aspect des systèmes
Témoin	—	200	73	Homogène
A	1/1.000	200	18,27	Précipité
Témoin	—	100	49,7	Homogène
B	1/1.000	100	27,4	Très fin précipité

Nous retrouvons là l'importance de la concentration en électrolytes sur l'abaissement de la différence de potentiel; mais on voit aussi que l'agglutination a lieu pour des différences de potentiel supérieures à celles qui avaient été observées pour *B. tumefaciens*, par E. SORU, pour le Bacille typhique par NORTHROP.

Enfin, Ph. LASSEUR et A. DUPAIX ont montré que les différentes dilutions d'un même système agglutinant offrent des vitesses de réaction extrêmement différentes. Avec les fortes concentrations en sérum (phénomène anormal mis à part), l'agglomération des Bactéries est pratiquement instantanée, tandis que pour des dilutions assez grandes l'agglomération n'est perceptible qu'après des temps de contact de l'ordre de 30 minutes, 60 minutes, 120 minutes, etc...

On peut donner de ces faits l'explication suivante: l'abaissement de la différence de potentiel, nous l'avons vu, est rapide mais n'atteint pas instantanément sa valeur limite. Avec de fortes concentrations, en 15 minutes, l'équilibre est sensiblement atteint, tandis qu'avec les faibles concentrations il faut 30, 60 et même 180 minutes.

Mais J.-H. NORTHROP (1921-1923), Ph. LASSEUR, A. DUPAIX et leurs Collaborateurs (1921-1928-1929-1930-1931-1932) ont montré que *la charge électrique ne suffit pas à expliquer le phénomène de l'agglutination*. C'est d'ailleurs également l'avis de BOUTARIC qui, en 1931, s'exprime de la façon suivante sur la théorie qui ramène la coagulation des colloïdes à des variations de la charge électrique: « *Cette théorie est très simple et semble contenir une grande part de vérité. Toutefois, elle n'est pas en accord avec tous les faits observés* ». Dans le Tableau IV, extrait du Fascicule V (page 177) des Travaux du Laboratoire de Microbiologie

de la Faculté de pharmacie de Nancy, Ph. LASSEUR et A. DUPAIX montrent que les plastides de l'expérience D, bien que non agglutinées ont une charge correspondant à une différence de potentiel de 36,5 millivolts, tandis que dans le système G, la différence de potentiel étant de 39 millivolts, les plastides sont agglutinées. Par conséquent, l'agglutination ne correspond pas dans ce cas à la différence de potentiel la plus basse. Il y a donc d'autres facteurs qui régissent le phénomène de l'agglutination, ce qui nous conduit à l'étude des forces d'attraction.

TABLEAU IV

Désignation des systèmes	Composition des systèmes		Caractères physico-chimiques des systèmes				
	Dilution du sérum	Concentration en NaCl mmgr 0/00	Tension superficielle en dyne-cm à 22° C.	Différence de potentiel en millivolts	Viscosité spécifique à 36° C.	Conductibilité spécifique à 25° C.	pH
I. — Sérum normal							
A	1/1.000	50	70,3			136,3 · 10 ⁻⁶	Homogène
B	1/1.000	100	70		1,028	227,8 · 10 ⁻⁶	Homogène
C	1/10.000	100	76		1,061	208,3 · 10 ⁻⁶	Homogène
D	1/1.000	200	68	36,5	1,006	413,3 · 10 ⁻⁶	Homogène
E	1/10.000	200	76	40,6	1,048	403,6 · 10 ⁻⁶	Homogène
II. — Sérum agglutinant							
F	1/1.000	50	69,9		1,061	131 · 10 ⁻⁶	Très fin précipité
G	1/1.000	100	69,5	39	1,164	219 · 10 ⁻⁶	Précipité
H	1/10.000	100	76,3	43,9	1,0205	210 · 10 ⁻⁶	Homogène
I	1/1.000	200	72	18,27	1,188	413,3 · 10 ⁻⁶	Précipité
J	1/10.000	200	76	20,2	1,118	392 · 10 ⁻⁶	Homogène
Témoin		200	76	73	1,001	393 · 10 ⁻⁶	Examen microscopique nombreux amas Homogène

(1) Après une heure de contact entre les plastides et le sérum.

FORCES D'ATTRACTION

Lorsqu'on essaie de précipiter les solutions colloïdales par des ions, la généralisation la plus importante semble être celle de SCHULZE-LINDER-PICTON et HARDY : les ions portant la charge de signe opposé à celui du colloïde sont les précipitants les plus actifs et plus la valence de l'ion est grande, plus l'action est importante. WHETHAM a généralisé en disant : « *le pouvoir coagulant d'une série d'ions de même signe est proportionnel à une constante élevée à une puissance égale à la valence de chaque ion* ». Les expériences postérieures ont permis d'établir une critique serrée de la loi de SCHULZE-LINDER-PICTON et HARDY. Pour LEWIS (1920), le phénomène d'adsorption privilégiée « *probablement d'origine capillaire* » joue au contraire le rôle principal. L'adsorption privilégiée consiste dans la fixation des ions d'une nature déterminée à l'exclusion de tous les autres sur les particules du colloïde envisagé. Il semble donc qu'à égalité d'adsorption, le pouvoir coagulant soit fonction de la valence de l'ion précipitant, mais dans ce cas seulement.

Lorsqu'on essaie de précipiter des plastides bactériennes chargées d'agglutinine par des ions à charge positive mais de valence différente, on ne vérifie pas la loi de SCHULZE et HARDY.

Considérons l'exemple d'une suspension de Bactéries. Ces plastides mises en suspension dans l'eau distillée sont additionnées d'une quantité convenable (1) de sérum homologue. Les plastides bactériennes ayant fixé l'agglutinine sont mises en présence de différents ions de charge positive. Certains ions possèdent une seule charge, d'autres deux, d'autres trois. Dans ces conditions d'expérience, nous constatons que les suspensions d'une même espèce bactérienne, additionnées d'un même sérum agglutinant, ne se comportent pas d'une façon identique en présence de ces différents ions. Lorsque l'on opère, non plus avec quelques ions mais avec une série d'ions, si l'on dispose ces ions dans l'ordre de leur action précipitante, cet ordre n'est pas toujours celui de leur charge. Par conséquent, l'absence de parallélisme entre les deux séries ne permet pas de ramener l'agglutination uniquement à la charge électrique des particules. Nous sommes ainsi conduits à l'étude des forces d'attraction. On arrive d'ailleurs à une conclusion du même ordre lorsqu'on effectue l'agglutination dans des milieux très pauvres en électrolytes. Dans ces cas, on observe

(1) Quantité toujours très faible, à moins qu'il ne s'agisse d'un sérum soumis à l'électrodialyse.

bien la formation d'amas de petites tailles qui sont transportés à l'anode comme les Bactéries non chargées d'agglutinine.

C'est un point sur lequel NORTHROP d'une part, Ph. LASSEUR d'autre part avaient insisté en 1921. Aussi, ces auteurs ont-ils pensé à faire intervenir les forces d'attraction. Victor HENRI et A. MAYER (in CHWOLSON, 1907) considérant la tension superficielle comme un des facteurs de stabilité colloïdale, résumaient leur conception de stabilité des suspensions dans le tableau suivant :

Solutions colloïdales stables	Solutions colloïdales instables
—	—
Tension superficielle faible	Tension superficielle grande
Charge électrique grande	Charge électrique faible
Milieu visqueux	Milieu fluide

Tension superficielle. — On a donc pensé à la notion de tension superficielle, tension interfaciale dans l'agglutination des Bactéries. Le rôle de la tension superficielle dans le phénomène de CHARRIN et ROGER ressort nettement des expériences d'agglutination sérique de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX en présence de taurocholate (Ph. LASSEUR et A. DUPAIX, 1932).

TABEAU V

Désignation des systèmes	Concentration en taurocholate (en milligrammes pour 100 cc.)	Dilution du sérum	Tension superficielle en dynes/cm. à 22° C.	Différence de potentiel en millivolts	Conductibilité spécifique à 25° C.	Aspect des systèmes
—	—	—	—	—	—	—
B	0	1/8.000	76	43,9	215 . 10 ⁻⁶	Précipité
G	125	1/500	43	33,8	948 . 10 ⁻⁶	Très petits amas
H	125	1/8.000	44,4	43,9	927 . 10 ⁻⁶	Homogène

Que voit-on sur le Tableau V que donnent les auteurs?

Comparons les systèmes B et H. De ces deux systèmes, l'un est précipité avec une différence de potentiel de 43,9 millivolts, tandis que l'autre reste homogène bien que la différence de potentiel soit, là encore, égale à 43,9 millivolts. Quels sont donc les autres paramètres différents entre B et H. Tout d'abord la tension superficielle qui, en B, est très élevée: 76 dynes, et très abaissée en H: 44,4 dynes. Conformément à la théorie de V. HENRI et A. MAYER, la résistance des suspensions bactériennes à l'action précipitante du sérum homologue serait due à la tension superficielle très petite dans le système H. C'est une première approximation. En effet, on peut objecter que les systèmes B et H ont une teneur différente en électrolytes. Or l'examen du système G montre que cette élévation de la concentration en électrolytes n'est pas un obstacle à l'agglutination, puisqu'en G, on observe l'agglutination sérique des Bactéries.

Nous retrouvons un autre exemple de l'influence des forces d'attraction dans les expériences de NORTHROP (1928).

L'auteur effectue l'agglutination sérique à des pH différents. NORTHROP constate les variations de potentiel suivantes :

De pH 4 à pH 8: potentiel négatif pouvant dépasser 8 millivolts ;

De pH 4 à pH 3,3: potentiel nul ;

De pH 3,3 à pH 2,3: potentiel positif pouvant atteindre 6 millivolts, et NORTHROP montre qu'il est possible dans certains cas de provoquer l'agglutination sans faire varier le potentiel, mais en augmentant la force d'attraction.

Avec Ph. LASSEUR et A. DUPAIX, nous admettons que l'équilibre des suspensions bactériennes peut être considéré comme étant une résultante R.

$$R = Fr - Fa.$$

Fr = Force de répulsion due à la charge électrique.

Fa = Force d'attraction.

Si l'on diminue Fr, Fa restant constant, il y aura agglutination. Le même phénomène se produit si Fa augmente, Fr restant constante. Enfin, les deux forces peuvent varier simultanément, Fr diminuer et Fa augmenter ; dans ce troisième cas, l'agglutination est rapide.

Une difficulté. — Lorsque l'on ajoute de l'oléate de soude à des systèmes agglutinants en quantité telle que la concentration en oléate atteigne 250 milligrammes pour 100 cm³ du mélange agglutinant, on cons-

tate que le système reste homogène, alors que le système-témoin, c'est-à-dire dépourvu d'oléate, donne un dépôt surmonté d'un liquide clair. Cette différence d'aspect dans ces deux systèmes peut être tout d'abord attribuée à l'abaissement de la tension superficielle qui, pour des milieux additionnés d'oléate, atteint des valeurs de 28 à 29 dynes par centimètre à 22° C. C'est incontestablement la première interprétation du phénomène, mais il ne faut pas oublier que l'addition d'oléate détermine une modification du pH de la suspension. Le système témoin, par exemple, présente un pH de 6,47, tandis qu'additionné de 250 milligrammes d'oléate, le système a un pH de l'ordre de 8,60. L'addition d'oléate augmente donc la concentration en ions OH—; or, les ions OH— déterminent par hydratation une diminution de l'opacité des suspensions bactériennes et les rendent de moins en moins sensibles à l'action précipitante des sérums agglutinants. En résumé, lorsque les suspensions bactériennes additionnées d'abord d'oléate de soude restent homogènes après addition ultérieure de sérum agglutinant homologue, nous sommes en droit de penser que l'absence d'agglutination est la résultante de deux phénomènes qui se superposent :

- 1° Abaissement considérable de la tension superficielle;
- 2° Augmentation de la teneur en ions OH—.

AUTRES FACTEURS D'ACTION

AGITATION

Pour hâter le contact des plastides avec l'agglutinine, on procède à une agitation des suspensions de plastides additionnées de sérum agglutinant. L'agitation doit être effectuée sans déterminer de mousse sensible, afin d'éviter la concentration de l'anticorps dans la mousse.

L'agitation violente et tardive risquerait de détruire les amas déjà formés.

TEMPÉRATURE

Contrairement à ce que l'on écrit souvent, dans les limites où elle n'altère, ni les plastides ni l'agglutinine, l'élévation de température augmente la vitesse de la réaction en diminuant la viscosité..

FIXATION DE L'ANTICORPS

Nous avons vu que la fixation de l'anticorps sur la plastide bactérienne peut déterminer des variations importantes de la tension superficielle et

de la charge de ces plastides. On peut essayer de remonter un peu plus haut dans nos explications, ce qui nous conduit à envisager :

- 1° *Le rôle des électrolytes sur la fixation de l'agglutinine;*
- 2° *La fixation de l'anticorps sur l'antigène.*

On sait que les plastides bactériennes en suspension dans l'eau distillée et additionnées de sérum convenablement dilué ou privé de ses électrolytes par dialyse restent isolées. L'agglomération ne se produit qu'en présence d'électrolytes. Dans ces expériences, l'anticorps peut se fixer sur l'antigène en absence d'électrolytes, mais l'agglutination ne se produit pas. Les plastides chargées d'agglutinine ne s'agglomèrent qu'à la condition d'être mises en présence d'une quantité convenable d'ions positifs. On peut alors se demander si les électrolytes ne jouent pas un rôle dans la fixation de l'anticorps sur l'antigène. On connaît des analogies dans l'adsorption par les colloïdes. Envisageons donc le rôle des électrolytes dans la fixation de l'anticorps. Ces expériences sont assez délicates, car il ne faut pas oublier que les plastides lavées et mises en suspension dans l'eau distillée laissent diffuser des électrolytes. Sous ces réserves, on constate que des traces d'électrolytes suffisent à la fixation de l'agglutinine (LASSEUR et ses collaborateurs). Comme dans les réactions colloïdales, la quantité d'anticorps fixée augmente avec la concentration en électrolytes, du moins jusqu'à une certaine valeur de cette concentration qui est de l'ordre de 200 milligrammes par litre. Au delà de cette valeur, la quantité d'agglutinine fixée est pratiquement indépendante de la teneur du milieu en électrolytes.

En résumé, et c'est là un point important des recherches de LASSEUR et de ses collaborateurs, la fixation de l'anticorps peut s'effectuer en présence de traces d'électrolytes, mais il ne semble pas qu'elle puisse se réaliser en l'absence de tout électrolyte.

ADSORPTION.

Le rôle de l'adsorption des ions positifs dans l'abaissement de la charge des plastides bactériennes ne peut pas être mis en doute.

On sait (LASSEUR et ses Collaborateurs) que la différence de potentiel diminue lorsqu'on ajoute des quantités croissantes de chlorure de sodium dans des suspensions de Bactéries additionnées de sérum agglutinant dépourvu d'électrolytes. Il y a plus : il est possible de renverser le signe de la charge lorsqu'on opère avec des sérums suffisamment actifs, et des systèmes renfermant une proportion de 9 0/00 de chlorure de sodium.

Dans cet exemple, la fixation des ions semble bien se ramener à un phénomène d'adsorption. Cependant, si l'adsorption prédomine et imprime son cachet au processus de fixation de l'anticorps, il n'est nullement démontré que l'union de l'anticorps et de l'antigène soit due uniquement au phénomène de l'adsorption. Lorsqu'on étudie les réactions d'équilibre des systèmes anticorps-antigène, on constate que l'agglutination peut être représentée par une courbe du genre de l'isotherme de l'adsorption, ce qui se traduit pratiquement par ce fait : la réaction est ou paraît totale pour les faibles concentrations ; elle est limitée pour les fortes concentrations. Lorsqu'on étudie la quantité d'agglutinine fixée par l'unité d'antigène en présence de quantités croissantes d'anticorps, on constate que la quantité d'agglutinine fixée croît, passe par un maximum et que dans certains cas elle décroît si la concentration en anticorps continue à augmenter. On retrouve donc là des faits analogues à ceux que l'on observe dans l'adsorption de différentes matières colorantes. Mais l'adsorption est un phénomène essentiellement de surface et pour des surfaces suffisantes, l'adsorption se produit toujours. Or, il est toute une série de faits qui ne peuvent pas trouver d'interprétation dans les phénomènes d'adsorption, ce qui conduit, comme Ph. LASSEUR le faisait déjà en 1921, à considérer les phénomènes anticorps-antigène à la superposition de deux phénomènes : l'absorption et l'adsorption. L'importance relative de chacun de ces deux facteurs varie avec les conditions d'expérience. Mais s'il existe une adsorption privilégiée de certains ions, il faut bien reconnaître que le processus classique d'adsorption est insuffisant pour rendre compte des phénomènes de spécificité des réactions anticorps et antigène et c'est pour cela que Ph. LASSEUR et A. DUPAIX (1930) font intervenir la notion d'adsorption orientée.

ADSORPTION ORIENTÉE

De nombreux savants admettent comme vraisemblable l'orientation possible sur une surface inerte, l'orientation étant due à l'affinité de certains groupes actifs pour l'eau jouant le rôle de liquide disperseur. On peut donc concevoir l'anticorps comme ajusté à la surface de l'antigène. Lorsqu'un anticorps est adsorbé par un antigène, en milieu aqueux, la partie la plus polaire de la molécule anticorps s'enfonce dans l'eau en produisant une adsorption orientée ; si l'extrémité de la molécule dirigée vers l'eau ressemble le plus possible à l'eau, l'extrémité dirigée vers l'antigène ressemble le plus possible à l'antigène. L'orientation des molécules adsorbées rendrait compte de la spécificité de la réaction.

B) APPLICATION DU TRANSPORT ELECTRIQUE A L'ETUDE DU ROLE DE LA CHARGE ELECTRIQUE DANS L'AGGLUTINATION

L'ensemble des faits que nous avons examinés dans l'étude du mécanisme de l'agglutination, limite le rôle de la charge dans l'agglutination sérique. Même ainsi limité, ce facteur d'action a une importance encore prépondérante et on conçoit ainsi tout l'intérêt que le Microbiologiste doit apporter à l'étude de la charge électrique des plastides bactériennes.

C'est en même temps que BECHHOLD (1904) d'une part, NEISSER et FRIEDEMANN (1904) d'autre part, ont étudié l'électrophorèse des Bactéries chargées d'agglutinine. On sait que des corps microbiens lavés, débarrassés de toute trace de milieu, sont transportés au pôle positif, tandis que ces mêmes plastides, lorsqu'elles ont fixé l'agglutinine ne subissent aucun transport « *et finissent par être agglutinées à la place qu'elles occupent* ». Telles sont du moins les conclusions qui découlent des travaux de NEISSER et FRIEDEMANN. Avec BECHHOLD, les Bactéries chargées d'agglutinine sont évidemment peu mobiles; elles sont cependant agglutinées entre les électrodes, mais plutôt du côté de l'anode. On peut conclure de ces deux travaux que la fixation de l'agglutinine paraît avoir pour effet d'amener les plastides bactériennes au point isoélectrique.

Persuadé de l'importance du rôle de la charge des Bactéries dans l'agglutination, J.-H. NORTHROP a consacré une série de mémoires en 1921-1922-1924 à l'étude de l'agglutination des Bactéries. L'auteur étudie l'agglutination du Bacille typhique par l'agglutinine typhique en présence de différents électrolytes: il constate que l'agglutination a lieu pour des différences de potentiel comprises entre $+ 13$ et $- 13$ millivolts, tandis que les suspensions sont stables pour des valeurs comprises entre $+ 13$ et $+ 39$ et entre $- 13$ et $- 39$ millivolts. L'agglutination n'a donc pas lieu seulement au point isoélectrique mais dans toute une zone comprise entre $- 13$ et $+ 13$ millivolts. On a appelé ces valeurs: *différence de potentiel critique*.

DE KRUYF et NORTHROP (1922-1923) étudient l'agglutination sérique des Bactéries et notamment le comportement des électrolytes dans ce phénomène. Les auteurs divisent les électrolytes en deux classes: les sels de la première classe ne renversent pas le signe de la charge tandis que ceux de la deuxième déterminent un renversement du signe de la charge; DE KRUYF et NORTHROP ont montré que l'addition d'électrolytes à des

suspensions bactériennes influe sur deux propriétés des suspensions : sur la différence de potentiel et sur la force de cohésion. Les faibles concentrations d'électrolytes touchent tout d'abord la différence de potentiel et les fortes concentrations, de l'ordre par exemple de N/10, affectent en premier lieu les forces de cohésion. Considérons le cas le plus simple, celui où les forces de cohésion ne sont pas sensiblement modifiées. Dans ce cas, l'agglutination aura lieu toutes les fois où la différence de potentiel sera abaissée au-dessous de 13 millivolts (dans le cas du Bacille typhique), tandis que lorsque les forces de cohésion seront diminuées parallèlement à l'abaissement de la différence de potentiel, aucune agglutination ne se produira même au-dessous de 13 millivolts.

A.-V. SZENT-GYÖRGYI (1921) constate que le Bacille typhique en milieu physiologique se dirige vers l'anode. D'après les travaux de BENIASCH, il semblerait que la substance agglutinante aurait un point isoélectrique pour une concentration en ions $H^+ = 4 \times 10^{-5}$. SZENT-GYÖRGYI estime que le point isoélectrique est compris entre les concentrations en ions H^+ suivantes : 1×10^{-6} et 5×10^{-6} . Cet auteur aurait déterminé le point isoélectrique des agglutinines qui serait entre les concentrations en ions $H^+ : 2 \times 10^{-8}$ et 4×10^{-6} .

Eugénie SORU, au laboratoire de CANTACUZENE, a beaucoup étudié les constantes physiques des suspensions bactériennes, et notamment la charge électrique des plastides chargées ou non d'agglutinine. En 1928 elle a expérimenté sur le Vibron cholérique et en 1929, elle poursuit ses recherches en utilisant *B. typhosus* et *B. tumefaciens*. Ces deux espèces bactériennes non chargées d'agglutinine ont une charge négative pour une zone de pH comprise entre pH 1,2 et pH 8,3. Lorsque, au contraire, elles sont chargées d'agglutinine, il existe, dans la zone précitée, un renversement du signe de la charge.

L'auteur signale encore ce fait intéressant : c'est que l'agglutinine spécifique purifiée correspondante aux 2 Bacilles étudiés « se comporte, dans « le phénomène de la cataphorèse, de la même façon que le Bacille sensibilisé, c'est-à-dire que, pour les différentes valeurs du pH, la courbe « du microbe sensibilisé suit la courbe de cataphorèse de l'agglutinine « spécifique correspondante. »

Nous avons résumé, dans les Tableaux VI et VII les résultats intéressants obtenus par Eugénie SORU.

Dans une autre communication faite également en 1929, Eugénie SORU étudie l'agglutination du *Bacillus tumefaciens* par l'addition d'ions H^+ . L'auteur détermine d'une part le pH des suspensions, d'autre part la

charge électrique des Bactéries. En faisant varier le pH de 0,8 à 8,2, Eugénie SORU constate que l'agglutination est surtout sensible pour la zone des pH variant entre 5,72 et 6,45 et qu'à ce moment la différence de potentiel observée est minimum et de l'ordre de 13 à 17 millivolts. C'est la zone du « *potentiel critique* ».

TABLEAU VI
Bacille typhique

		Les plastides se dirigent vers :
Plastides non chargées d'agglutinine.....	pH de 1,2 à 8,3	l'anode
Plastides chargées d'agglutinine {	pH de 1,2 à 4,2	la cathode
	pH de 4,2 à 4,5	l'anode et vers la cathode
	pH de 4,6 à 8,3	l'anode

TABLEAU VII
Bacillus tumefaciens

		Les plastides se dirigent vers :
Plastides non chargées d'agglutinine	pH de 1,2 à 8,3	l'anode
Plastides chargées d'agglutinine {	pH de 1,2 à 3,5	la cathode
	pH = 3,6	(pas de transport)
	pH de 3,6 à 4,2	les 2 pôles
	pH supérieur à 4,2	l'anode

En 1932 Ph. LASSEUR et A. DUPAIX donnent d'ailleurs en un tableau que nous reproduisons ci-dessous (Tableau VIII) quelques-unes des valeurs observées par différents auteurs comme différence de potentiel critique.

TABLEAU VIII

Systèmes considérés	Différence de potentiel critique en millivolts	Auteurs
Suspension de <i>Bacille typhique</i> {	13	NORTHROP
	15	
Suspension de collodion.	16	LOEB
Suspension d'huile.	30	POWIS
Suspension de <i>B. tumefaciens</i> ..	17,95	E. SORU
Suspension de <i>B. caryocyanæus</i> {	18	LASSEUR et DUPAIX
	(27)	

G. YAMAHA et S. ABE (1934) soumettent des suspensions de *Staphylococcus aureus*, *Sarcina lutea*, *B. pyocyaneus*, *B. pseudo-diphtheriae*, *Diplococcus gonorrhoeae*, *B. pertussis*, *B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. proteus*, à l'action de solutions ($\text{NaCl} + \text{HCl}$) de concentrations croissantes en ions H^+ . La zone des pH expérimentée n'est pas la même pour toutes les espèces bactériennes. C'est ainsi que le pH des systèmes varie de 1,4 à 6,2 pour *B. pseudo-diphtheriae*, de 2,6 à 5,3 pour *B. pyocyaneus*, de 3 à 4,9 pour *Staphylococcus aureus*. Ces solutions acides déterminent la floculation des suspensions dans des zones définies de pH.

Les auteurs soumettent à l'électrophorèse ces différents systèmes précipités ou non. Dans ces essais, les plastides sont transportées à l'anode quelle que soit l'espèce bactérienne envisagée, à la condition toutefois que l'on opère dans une zone de pH convenable. Pour le *Staphylococcus aureus* par exemple, le pH doit être supérieur à 3,5.

Pour des zones de pH plus acide, quelle que soit l'espèce bactérienne envisagée, les plastides sont transportées à la cathode. **On assiste donc à un renversement du signe de la charge électrique.**

L'ensemble des Travaux que nous venons de résumer paraît donc bien établir que l'agglutination a lieu entre deux valeurs limites de la différence de potentiel formant une zone critique autour du point isoélectrique. Une complication apparaît: on sait que l'agglutinine spécifique ne peut précipiter l'antigène qu'en présence d'électrolytes. Or, nous savons aussi que les électrolytes peuvent être une cause d'erreurs dans l'interprétation du résultat du transport électrique ainsi que le montre l'agglutination de *B. balticus* effectuée en présence de quantités croissantes de chlorure de sodium. Les résultats obtenus avec *B. balticus* sont résumés par Ph. LASSEUR et P. JOUFFRÖY (1928) dans le tableau que nous reproduisons (Tableau IX).

TABEAU IX
Transport électrique des Bactéries en présence d'électrolytes

Systèmes soumis au champ électrique	Aspect microscopique	Transport au pôle	Temps de passage en secondes	Observations
A Suspension de <i>B. ballicus</i> dans l'eau distillée	—	—	—	
B Suspension de <i>B. ballicus</i> dans l'eau distillée + 0,2 %/oo de NaCl ..	Eléments isolés	Positif	9	
C Suspension de <i>B. ballicus</i> dans l'eau distillée + 0,6 %/oo de NaCl ..	Eléments isolés	Positif	11	Au bout de 2 minutes: immobilisation brusque et aglutination.
D Suspension de <i>B. ballicus</i> dans l'eau distillée + 9 %/oo de NaCl ...	Eléments isolés	Positif	12	Transport durant quelques secondes puis agglutination.
	Eléments isolés	Positif et négatif		Pas de transport -ou transport durant quelques secondes (2-3) au positif et au négatif, soubresaut, dégagement gazeux, agglutination.

C'est ainsi que nous serons conduits à réaliser l'agglutination en présence des quantités les plus faibles possible d'électrolytes. Pour cela, un procédé consiste à soumettre le sérum agglutinant à l'électrodialyse, et, débarrassé de ses électrolytes, à le faire agir ensuite sur les plastides bactériennes bien lavées et en suspension dans l'eau distillée. Il n'y a plus ensuite qu'à ajouter une quantité d'électrolytes assez faible mais suffisante pour déterminer l'agglutination. Ce mode opératoire est susceptible de soulever l'objection suivante: L'emploi de sérum à forte concentration n'en constitue pas moins une source de complications puisque les albumines du sérum peuvent servir comme stabilisants.

Ph. LASSEUR a trouvé qu'il était plus rationnel d'expérimenter avec des sérums agglutinants à une très grande dilution, de l'ordre par exemple de 1/100.000. De tels sérums, dilués par exemple à 1/4.000 renferment encore 25 unités d'agglutinine et ne possèdent pas plus que quelques milligrammes d'électrolytes. C'est ainsi que par cette méthode l'auteur arrive à éliminer pratiquement les complications dues aux électrolytes et aux albumines.

Dans les expériences de Ph. LASSEUR, les amas bactériens sont transportés au pôle positif. Nous retrouvons donc là des faits qui plaident en faveur de la théorie ramenant l'agglutination à une différence de potentiel critique et non au point isoélectrique. Les Bactéries, même agglutinées, ne possèdent pas une charge nulle. Dans une expérience effectuée avec *Bacillus pyocyaneus*, l'auteur a observé le renversement du signe de la charge.

Le tableau X, emprunté à Ph. LASSEUR (1) montre l'action des électrolytes sur le complexe: plastide + agglutinine.

TABEAU.

(1) Travaux du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy, 1928.

TABLEAU X

*Action des électrolytes sur le transport des complexes:
plastide + agglutinine*

Système soumis au champ électrique	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	Transport au pôle	Temps de passage en secondes
<i>Essai I</i>				
A <i>B. Balticus</i> eau distillée + 0,2 °/oo NaCl + sér. 1/3.000	Précipité	Amas moyen et quelques éléments isolés	Positif	10-12
B. <i>B. Balticus</i> eau distillée + 0,6 °/oo NaCl + sér. 1/3.000	Précipité	Gros amas	Positif puis au négatif	12-14, 14-18 vers l'anode puis vers la cathode
C <i>B. balticus</i> eau distillée + 9 °/oo NaCl + sér. 1/300	Précipité	Gros amas	Pas de transport	
<i>Essai II</i>				
A <i>B. balticus</i> eau distillée + 0,2 °/oo NaCl + sér. 1/3.000	Précipité	Amas moyen	Positif	7-8
B <i>B. balticus</i> eau distillée + 0,2 °/oo NaCl + sér. 1/500	Précipité	Gros amas	Positif	10-13

Remarque I. — Le système B de l'essai I montre un renversement du sens du transport.

Remarque II. — Une partie de suspension bactérienne est additionnée d'une partie de sérum dilué.

Dans l'expérience C, où les amas formés sont beaucoup plus gros, il n'y a pas de transport. Dans ce cas, l'immobilité des agglutinats peut s'interpréter soit par l'adhérence des gros amas aux parois des lames, soit par la concentration en électrolytes qui est relativement élevée puisqu'on opère avec du sérum dilué au 1/500.

Le renversement du signe de la charge se réalise facilement lorsque l'on traite les Bactéries par le rouge neutre qui, on le sait, agglutine les suspensions de nombreuses Bactéries. Une suspension de *B. balticus* dans

l'eau distillée additionnée d'une concentration de rouge neutre $\frac{C}{4}$ mise

en présence de chlorure de sodium à la dilution de $\frac{0,2}{1.000}$ montre de gros

flocons; on assiste à la formation d'un dépôt au bout d'un temps convenable. L'examen microscopique décèle la présence de gros amas qui ne sont pas transportés. On observe par contre de nombreux petits amas qui sont transportés au pôle positif. Lorsqu'on utilise la même concentration en chlorure de sodium, mais une concentration quatre fois plus forte en rouge neutre, on obtient encore la formation d'amas de tailles différentes; les gros sont immobilisés, paraissant accrochés à l'une des parois, tandis qu'au contraire les petits amas sont transportés au pôle négatif. En comparant ces deux expériences, on constate un renversement du signe de la charge.

En résumé, dans les expériences de Ph. Lasseur, l'agglutination a lieu avant le point isoélectrique. Ce fait est incontestable; c'est celui-là que nous retiendrons des belles expériences de l'auteur, le renversement du signe de la charge ne nous étant pas d'un grand secours dans l'étude que nous poursuivons.

C) APPLICATION A L'ISOLEMENT DES VIRUS FILTRANTS

L'électrophorèse a rendu de grands services dans l'étude des caractères biologiques des Virus et aussi dans leur séparation des tissus. C'est ainsi que certains tissus paraissent être inactifs, et, après avoir été soumis à l'électrophorèse, on trouve à l'anode le produit infectieux. Signalons, en effet, avant de passer en revue les résultats obtenus par de nombreux auteurs que la présence d'un ultra-Virus dans un liquide soumis à l'électrophorèse se révèle seulement par la virulence du liquide pour les animaux en expérience. Cette virulence pouvant être atténuée ou détruite

par l'addition d'ions H^+ ou d'ions OH^- , ceci constitue une cause d'erreurs qu'il ne faut pas perdre de vue dans une telle étude. Pour la commodité de l'exposé, nous avons rassemblé pour chacun des Virus étudiés, les résultats obtenus.

Signalons encore que le procédé utilisé par BEDSON et BRAND (1929) pour déterminer la charge des Ultra-Virus permet aussi l'obtention de cultures relativement pures en Ultra-Virus. Les auteurs partent de ce fait que le papier-filtre possède une charge négative et que les particules de même charge montent facilement le long des bandelettes de papier immergées dans le liquide. On sait que dans ces conditions, les particules à charge positive ne pourraient pas s'élever très haut. L'expérience montre que les Ultra-Virus peuvent s'élever dans les bandes de papier.

BACTÉRIOPHAGE

MARIANO GUARDABASSI a apporté une contribution très importante à l'étude de la charge électrique des ultra-virus et des bactériophages. Dès 1927, le savant italien soumettait une culture de bactériophages à l'action d'un champ électrique dont l'intensité était de 0,4 milliampère. GUARDABASSI a fait des prélèvements de liquide après des temps variables et a constaté que l'activité lytique du liquide à la cathode est supérieure non seulement à celle du liquide au contact de l'anode, mais encore à celle du liquide non soumis à l'action d'un champ électrique. Le bactériophage anti-Shiga serait transporté à la cathode et de ce fait aurait une charge positive. Avant de pousser plus loin l'analyse critique du beau travail de GUARDABASSI, ouvrons une parenthèse au sujet de la charge électrique du Bacille dysentérique. On sait que pour CERNOVODEANU et Victor HENRI, OKA, CLUZET, ROCHAIX et KOFMAN, le Bacille dysentérique serait transporté à la cathode et aurait donc une charge positive. Par contre, les recherches de SZENT-GYÖRGYI (1920) et WATANABE (1926), KUWASHI TOMITA (1926) semblent montrer que les Bacilles dysentériques sont transportés à l'anode comme toutes les autres Bactéries. Aussi GUARDABASSI fait-il justement remarquer que si le Bactériophage a une charge positive et le Bacille de Shiga une charge négative, il est plus facile de concevoir l'action de l'agent lytique vis-à-vis de la Bactérie. Ceci serait même un argument de grande valeur en faveur de l'entité biologique du Bactériophage. Il ne faut pas oublier, en effet, que pour certains auteurs et non des moindres, le Bactériophage est considéré comme un dérivé de peptisation des Bactéries.

En 1934, GUARDABASSI publie un mémoire important sur les caractères physico-chimiques des ultra-virus. Le savant italien rappelle que l'étude des ultra-virus a réalisé un grand progrès par l'emploi des tissus comme milieux de culture et par l'application de méthodes physico-chimiques. L'auteur rappelle la fixation du Bactériophage sur les Bactéries par adsorption. Il envisage aussi l'hypothèse de la pénétration du virus filtrant à l'intérieur de la plastide avec sortie ultérieure du Bactériophage.

On sait que pour MUTSAARS (1934), le Bactériophage serait fixé à la surface par un phénomène d'adsorption et il n'y aurait pas pénétration du germe filtrant. L'hypothèse de MUTSAARS serait conforme aux résultats obtenus d'une part par O. CASAGRANDE et C. CASAGRANDE (1926), d'autre part par GRANATA; CANTACUZENE et BONCIU (1926-1927); MARTIN et LAFFAILLE (1926).

WOLLMANN (1927) n'observe aucun transport du Bactériophage dans le champ électrique, tandis qu'au contraire ANGERER (1923) constate un transport vers l'anode, c'est-à-dire une charge négative. DE KOCH (1926) assigne au Bactériophage une charge positive. Les résultats obtenus par l'adsorption sont variables suivant les auteurs. GILDEMEISTER et HERZBERG, (1923-1924), KRAMER (1927) réussissent à faire adsorber le Bactériophage par les colloïdes électro-positifs. Par contre FRANKEL et SCHULTZ (1927), PRAUSNITZ et FIRLE (1924) adsorbent le Bactériophage à l'aide de colloïdes électro-négatifs.

TODD (1927) attribue une charge positive pour les zones de pH allant de 3,6 à 7,6. KRUEGER, RITTER et SMITH (1929) observent une charge négative pour la zone de pH comprise entre pH égal à 9 et pH égal à 3,4 et une charge positive pour la zone de pH inférieure à 3,35.

La purification du Bactériophage a été opérée par ARNOLD et WEISS (1924-1925). A cet effet, les auteurs utilisent la précipitation par une solution de sulfate de soude à 14 %, traitement par la trypsine, filtration sur papier et bougie BERKEFELD.

Signalons enfin qu'en 1931, Louis MARMIER et Victor GRYSEZ se servent de la cataphorèse pour la purification d'un Bactériophage afin de pouvoir utiliser celui-ci en thérapeutique par injection intra-veineuse. Jusqu'alors, différents auteurs (KOCH, 1926; KRUEGER, RITTER et SMITH, 1929; KRUEGER et TAMADA, 1929; NATARAYAN et HYDE, 1930) n'avaient pas obtenu une accumulation suffisante du Bactériophage au pôle positif.

MARMIER et GRYSEZ ont utilisé « une bougie CHAMBERLAND, vernie au voisinage de l'orifice et remplie d'eau salée physiologique. Elle plonge dans un récipient où on a mis le Bactériophage. Ce récipient est en com-

munication avec le pôle négatif du secteur par un tube de verre rempli du même liquide et suffisamment long pour éviter tout phénomène d'électrode métallique au voisinage de la bougie. L'intérieur de la bougie est relié au pôle positif par l'intermédiaire d'un long tube de verre rempli d'eau salée physiologique. La bougie est ainsi au contact de véritables électrodes liquides. Les longueurs respectives des tubes de verre, tant du côté positif que du côté négatif, ont été ajustées pour que la bougie fût sensiblement au point neutre du circuit électrique. » Dans ces conditions d'expériences les deux savants ont obtenu à l'intérieur des bougies des Bactériophages très purifiés qui ont pu être utilisés en Thérapeutique.

L'éminent Directeur de l'Institut Pasteur de Lille et son collaborateur ont décrit en 1935 de nouvelles expériences et de nouveaux résultats thérapeutiques obtenus avec leur appareil qui avait subi des perfectionnements.

Enfin, dans un très documenté et très important ouvrage récent (1938), C. LEVADITI, P. LÉPINE et leurs collaborateurs ont fait une mise au point de nos connaissances sur les Ultra-Virus des Maladies humaines. Ces auteurs citent plusieurs expérimentateurs ayant conclu à « *l'électronégativité des particules des phages* ».

VIRUS APHTEUX

OLITSKI et BOEZ (1927) attribuent une charge positive au virus aphteux à pH 8 tandis que POPPE et BUSCH trouvent une charge négative.

IRMENGARD et SICHER-MODROW décèlent une charge négative de pH 7 à pH 8,2.

KÖBE (1931) conclut à une charge négative; il ne réussit cependant pas à réaliser un enrichissement du virus à l'anode; il constate que le liquide de la cathode, seul, n'est pas virulent mais que ce liquide augmente la virulence de celui recueilli à l'anode.

VIRUS AMARILLE

HINDLE et FINDLAY ont étudié ce Virus en 1930. Ils lui ont attribué une charge négative.

VIRUS DE BORNA.

NICOLAU et KOPCIEWSKA ont observé en 1931 une charge négative en opérant de pH 7,2 à pH 7,4 et à pH 6,6. Par contre, à pH 5,6 le Virus présente une charge positive.

VIRUS FILTRANT DU BACILLE TUBERCULEUX.

En 1926 CLUZET, CHEVALLIER et KOFMAN déterminent le signe de la charge du Virus filtrant du Bacille tuberculeux, et le trouvent négatif. En 1934, GUARDABASSI soumet du sang humain à l'électrophorèse. Le savant italien résume ses recherches dans les termes suivants: « *Je crois « pourtant que pour déceler le Virus tuberculeux dans le sang, la méthode de l'électrophorèse présente de notables avantages sur les autres « méthodes employées jusqu'ici.* »

Ajoutons que dès 1929, cet auteur avait trouvé pour le Virus du Bacille tuberculeux une charge négative à pH: 6,6 et qu'il utilisait les appareils de PULCHER et de NORTHROP.

VIRUS DE LA DIPHTÉRIE AVIAIRE

FINDLAY, en 1930, attribue une charge négative au Virus de la diphtérie aviaire pour des pH de 6,6 à 8. La même année, NATARAYAN et HYDE, pour des pH allant de 6,6 à 9,3, observent une migration aux deux pôles.

Un fait important serait celui observé par KLIGER et OLITSKY (1931). Dans les expériences de ces savants, le Virus se comporte différemment suivant qu'il est en présence ou non de protéine.

VIRUS ENCÉPHALITIQUE, LEUCÉMIE MYÉLOÏDE, POLIOMYÉLITE.

Le Virus de la poliomyélite a fait l'objet des recherches de JONESCO, MIHAESTI, WISNER et MESROBEANU en 1929. Ces auteurs ont trouvé une charge négative à pH 6,9. En 1930, NICOLAU et GALLOWAY ont étudié le Virus de l'« *encéphalomyélite* ». En juin de la même année, LÉPINE constate que le Virus encéphalitique est transporté à l'anode. En 1931, LEVADITI et LÉPINE ne sont pas arrivés à transporter le Virus poliomyélitique.

En 1932, GUARDABASSI soumet à l'électrophorèse le sang de leucémie myéloïde. Il utilise pour cela l'appareil de NORTHROP. Dans ses expériences difficiles à réaliser, l'auteur aurait observé que le Virus aurait une charge négative à pH $\approx$ 5,6, mais que la charge serait positive à pH = 7,8.

VIRUS HERPÉTIQUE

BEDSON et BRAND (1929) constatent une charge négative pour des pH de 7,6 à 8; une charge positive pour des pH de 7,2 à 7.

GUARDABASSI (1929) n'observe aucun transport à pH 5,2; 6,8 et 7,4. Le Virus est inactivé à pH 4,4.

LÉPINE, en juin 1930, constate que l'électrophorèse est un procédé de concentration du Virus herpétique.

Enfin NICOLAU et KOPCIEWSKA, en 1930, indiquent, pour ce Virus, une charge négative de pH 5,3 à pH 7,8.

VIRUS DE LA PESTE AVIAIRE

En octobre 1930, LÉPINE constate que le Virus de la peste aviaire émigre à l'anode pour des valeurs du pH comprises entre 6,2 et 8,2.

VIRUS DE LA RAGE

KRAUS, EISLER et TUKARA (1909), attribuent un caractère ampholyte au Virus rabique en se basant sur l'adsorption.

En 1929, GUARDABASSI, par l'électrophorèse, trouve une charge négative pour des pH de 5,6 à 7,2.

Enfin, en 1930, NICOLAU et KOPCIEWSKA, à l'aide de l'appareil de TODD et de celui d'OLITSKY, étudient l'électrophorèse du Virus rabique des rues et trouvent que celui-ci possède une charge négative lorsque le pH est compris entre 5,8 et 7,5. Les auteurs indiquent qu'ils obtiennent les meilleurs résultats avec l'appareil de TODD.

SARCOME

En 1918 PULCHER trouve une charge négative pour des pH compris entre 6 et 7,7.

VIRUS FILTRANT DE LA MOSAÏQUE DU TABAC

C'est encore GUARDABASSI qui, en 1929, étudie le transport électrique de ce Virus. Il trouve une charge positive pour pH 4,4. Le savant italien, comme dans l'étude du Virus de la rage, de celui de la Vaccine et de celui du Bacille tuberculeux, utilise les appareils de PULCHER et de NORTHROP. Cet auteur se sert d'une différence de potentiel aux bornes de 150 volts, donnant un courant de 12 milliampères. Il fait remarquer que plus le courant est faible, meilleur est le fonctionnement de l'appareil (en raison de la dépolarisation).

VACCINE

Dans les expériences de DOUGLAS et SMITH (1928) la vaccine paraît être douée d'une charge négative; c'est d'ailleurs ce que confirme GUARDABASSI en 1929, qui retrouve cette charge négative pour des pH 5,8; 8.

Par contre, en avril 1930, LÉPINE ne réussit pas à transporter du Virus vaccinal en le soumettant à l'action d'un champ électrique.

Je ne veux pas terminer ce chapitre sans renvoyer le Lecteur aux belles publications de BECHHOLD (1934). Cet auteur se propose d'étudier les ultra-Virus à l'état pur.

C'est d'ailleurs une difficulté que d'obtenir ces derniers dans un tel état, car les ultra-Virus exigent, pour leurs manifestations vitales des protéines vivantes vers lesquelles ils sont attirés par un tropisme spécial, tropisme qui varie d'un Virus à l'autre en ce qui concerne le même tissu. Toutes les parties d'un même tissu ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis du Virus. Ce qui a permis d'établir une classification des Virus d'après leur affinité pour les tissus.

Nous pouvons résumer les résultats ci-dessus exposés, en disant que les expériences effectuées sur le transport électrique des ultra-Virus montrent qu'ils ont une charge négative et émigrent vers l'anode.

D) APPLICATION A LA CARACTERISATION DE DIFFERENTS TYPES MICROBIENS PAR LEUR CHARGE ELECTRIQUE

Lorsqu'on étudie d'une façon systématique, soit la charge de plastides appartenant à différentes espèces microbiennes, soit la charge de toutes les plastides formant une population d'une même espèce microbienne, on observe souvent des variations importantes de la différence de potentiel. Ces faits ont conduit certains Microbiologistes à chercher dans l'étude des propriétés physico-chimiques des suspensions bactériennes, de nouveaux attributs permettant d'identifier les germes ou de réaliser des coupures dans les différents groupes bactériens.

En 1925, FALK, GUSSIN et JACOBSON ont tenté de classer les Pneumocoques en différents types à l'aide de l'électrophorèse.

DAMBOVICEANU, en 1930, aurait constaté un fait très curieux. C'est que les formes (R) et les formes (S) des Bacilles d'AERTRYCKE,

d'EBERTH et de SHIGA auraient des charges différentes. Le type (R) aurait en effet une « charge électrique négative supérieure à celle du type « S » ».

D'après REZZESSI (1932) la vitesse de migration serait plus grande chez les Bactéries dépourvues de fouets.

En 1932 également, OLITSKY étudie le transport électrique de *B. proteus*, qui, on le sait, présente une forme H et une forme O.

Dans ces expériences, les plastides dépourvues de fouets ont une vitesse de transport plus grande que les plastides possédant des organes moteurs.

En 1933 E.-C. ROSENOW s'est efforcé de différencier les diverses races de Streptocoques par l'électrophorèse. Dans ses expériences, l'auteur constate qu'il existe un parallélisme entre l'affinité élective des Streptocoques pour un organe déterminé et leur vitesse de transport électrique. C'est ainsi qu'il y aurait deux grands groupes de Streptocoques : les types arthrotropes et les types neurotropes. Dans le premier groupe se trouvent les agents des arthrites ; dans le second, ceux des germes qui se retrouvent dans l'encéphalite, la poliomyélite et d'autres affections nerveuses. Il y aurait en outre, des souches rhinotropes et des souches bronchotropes. Or, chaque type se caractériserait, nous venons de le voir, non seulement par son affinité pour un organe, mais encore par sa vitesse de transport dans un champ électrique.

Dans une note très intéressante sur l'électrophorèse des *Brucella*, LISBONNE et SEIGNEURIN (1933) s'efforcent de différencier les divers types de *Brucella*. Ces savants auteurs ont utilisé un dispositif microscopique qui « permet de mesurer, sur un micromètre oculaire, les déplacements des éléments microbiens en suspension à différentes hauteurs de la préparation ». Les mesures de LISBONNE et SEIGNEURIN sont certainement correctes. De plus, les auteurs ayant opéré sur des corps microbiens débarrassés de toute trace de milieu nutritif, nous pouvons considérer leurs résultats comme acquis. Les savants constatent que la classification obtenue par l'électrophorèse range les *Brucella* non pas d'après leurs caractères intrinsèques, mais d'après l'espèce animale dont ils proviennent. « Ainsi les germes isolés de la Vache (qu'ils soient *Brucella melitensis* ou *Brucella abortus*) se distinguent par une mobilité double environ de ceux isolés de l'Homme *melitensis* ou *abortus*). »

SEIGNEURIN (1935) développa les expériences décrites plus haut et réalisées avec son Maître, M. le Professeur LISBONNE. Il étudia tour à tour les *Salmonella* et le Bacille paratyphique B., le Bacille d'EBERTH, le Ba-

cille paratyphique A et *Bacterium coli*, puis les *Pasteurellae*, les *Corynebacterium*, les Bacilles tuberculeux, les Streptocoques pyogène et gourmeux, enfin les Staphylocoques doré et blanc. De ces belles expériences sur les *Salmonella*, B. typhique et paratyphiques et Colibacille, il résulte que : « pour les concentrations microbiennes étudiées, les Bacilles d'Eberth, paratyphique A et Coli, sont chargés négativement. Par contre, les paratyphiques B et les *Salmonella* se comportent comme s'ils étaient constitués chacun de deux types de germes, les uns positifs et les autres négatifs. En ce qui concerne les para B nous avons observé les faits suivants: la séparation des germes positifs des négatifs est difficilement réalisable; cependant, on peut arriver à obtenir des germes purement positifs en faible quantité; ceux-ci, ensemencés sur milieux ordinaires, redonnent des germes négatifs et positifs. D'autre part, le vieillissement des cultures tend à négativer la charge, et on ne retrouve que des germes négatifs ». Comme conclusion à son étude sur les *Pasteurellae*, SEIGNEURIN indique que « la souche porcine a une mobilité supérieure à la souche bovine, comme le *brucella* porcin avait une vitesse supérieure au *brucella* bovin ». L'électrophorèse permet également à SEIGNEURIN de distinguer deux types de *Corynebacterium* ainsi que de remarquer deux vitesses de transport différentes pour deux souches de B. tuberculeux et pour deux souches de Streptocoques.

Signalons enfin qu'en expérimentant avec les Vibrions cholériques, Eugénie SORU, en 1934, constate qu'il existe un parallélisme entre la vitesse de transport et l'agglutination de ces germes par la trypaflavine.

E) APPLICATION DU TRANSPORT ELECTRIQUE A L'ETUDE DE LA RELATION ENTRE LA CHARGE ELECTRIQUE ET LA COLORABILITE

En 1909, J. LARGUIER DES BANCELS a étudié la modification de la charge électrique des textiles au cours de leur teinture. On conçoit que la fixation du colorant soit sous la dépendance de la valeur de sa charge. Les Biologistes ne paraissent pas avoir eu connaissance des recherches du physicien français. Cependant des savants américains tels que Victor BURKE et Fred O. GIBSON ont cherché à établir une relation entre la charge des Bactéries et leur colorabilité. E.-W. STEARNS et A.-E. STEARNS (1924-1925) font jouer un rôle à la charge dans la coloration de GRAM. Il est vrai que WINSLOW et UPTON (1926), V. BURKE et F.-O. GIBSON (1933) arrivent à des conclusions opposées. Il ne faut

pas oublier qu'une coloration qui fait intervenir successivement du violet de gentiane phéniqué et de l'iode est une coloration très brutale et que les différences relativement faibles de charge ne semblent pas devoir se traduire par des variations sensibles de la coloration des Bactéries. Il en serait tout autrement si l'on utilisait des solutions aqueuses de matières colorantes. Ce qui semble bien justifier ces conclusions, c'est que les colorants acides ou basiques en solutions aqueuses se comportent de façon très différente vis-à-vis des Bactéries.

Signalons encore que CERNOVODEANU et Victor HENRI (1906) attribuent au Bacille de L'EXNER une charge positive. Ces auteurs, en constatant que cette Bactérie se colore plus difficilement que les autres par la thionine et d'autres colorants, se demandent si les différences de colorabilité des divers germes ne trouvent pas leur explication dans des charges différentes de l'élément bactérien.

M. SEKI (1932) a étudié les rapports existant entre la colorabilité et la charge électrique des érythrocytes fixés ou non par le formol. Ceux-ci, d'après l'auteur, sont entourés d'une membrane (ou d'une couche différenciée) qui serait formée d'une substance chargée négativement. La membrane a une faible, mais nette affinité pour les colorants basiques chargés positivement, mais elle ne se combine presque pas avec les colorants acides chargés négativement, lesquels sont en outre insolubles dans les lipoides. La membrane est dénaturée par la mort et devient perméable à de nombreuses substances; l'hémoglobine basique (ou son constituant albuminoïdique: la globine) sera alors bien colorée par les colorants acides et à peine par les colorants basiques.

Signalons enfin que Ph. LASSEUR, A. DUPAIN-LASSEUR et L. GEORGES (1933) constatent que dans la fixation d'un colorant acide (bordeaux B.) et de trois colorants basiques (bleu de méthylène, safranine et rouge neutre) *B. caryocyaneus*, *B. pyocyaneus*, *B. subtilis* et *B. mesentericus* se comportent sensiblement de la même façon. Il n'existe donc pas, dans ces conditions d'expérience, de relations étroites entre la charge des Bactéries et leur aptitude à garder le colorant.

F) APPLICATION DU TRANSPORT ELECTRIQUE A L'ANALYSE CAPILLAIRE

Nous ne voulons pas terminer ce chapitre sans signaler que différents auteurs ramènent l'analyse capillaire à des phénomènes d'adsorption. On conçoit alors que les Microbiologistes aient

cherché à isoler par l'analyse capillaire les différentes espèces bactériennes existantes dans un mélange. C'est ainsi que dans les expériences de FRIEDBERGER, le Bacille typhique et le Colibacille offrirait des hauteurs d'ascension différentes le long d'un papier. La zone supérieure renfermerait surtout le Bacille typhique et la zone inférieure essentiellement le Colibacille. Ceci paraît d'ailleurs conforme à la Théorie de FICHTER et SAHLBOM établissant une relation entre la hauteur d'ascension le long d'un papier et la charge des particules. Le papier ayant une charge négative, ce sont les Bactéries les plus chargées négativement qui monteraient le plus haut.

Dans de belles expériences faites en 1934, Ph. LASSEUR, J.-G. MARCHAL et C. MAGUITOT ont étudié cette analyse capillaire et l'isolement des Bactéries dans des mélanges de différents germes. Ils sont arrivés à des constatations extrêmement intéressantes, trouvant que le comportement d'une espèce bactérienne varie suivant que celle-ci est seule ou bien associée à d'autres Bactéries. De plus, ces auteurs ont remarqué que si on faisait changer la charge du papier servant à l'analyse capillaire, les hauteurs d'ascension des germes le long des bandelettes étaient très différentes.

On paraît donc pouvoir conclure de ces études que les Bactéries ont des charges négatives et que les charges de chaque espèce sont fonction de la présence ou de l'absence d'autres germes dans la même suspension.

Tous les Biologistes connaissent la contribution considérable apportée par Augustin BOUTARIC (1936) à l'étude du mécanisme des phénomènes vitaux. Il est peu de problèmes qu'il n'ait abordé avec succès. Loin de tout esprit de compartimentage, le célèbre physicien s'intéresse même aux problèmes de Microbiologie, et c'est ainsi que, frappé par certaines irrégularités observées par Ph. LASSEUR, A. DUPAIX-LASSEUR et MARCHAL dans l'ascension des suspensions bactériennes à travers les corps poreux, il a repris expérimentalement l'étude de l'ascension des solutions colloïdales à travers les corps poreux. Le savant dijonnais montre quelles doivent être les conditions générales d'expérience, l'importance à ne travailler qu'en atmosphère saturée d'humidité, la nature des papiers filtres utilisés, la hauteur d'immersion, la température, etc...

L'ensemble de ces belles recherches montre « *l'influence déterminante qu'exerce sur la pénétration des granules et des ions colorés dans les corps poreux le mouvement d'entraînement du liquide intermicellaire dû à l'imbibition de la matière du corps poreux par ce liquide* ».

DEUXIEME PARTIE

Recherches personnelles

CHAPITRE PREMIER

Techniques employées

Au cours de nos recherches, nous avons utilisé, dans l'étude du transport électrique des Bactéries, *les procédés microscopique et macroscopique*. Nous verrons, en effet, qu'il est indispensable, dans certains cas, de contrôler les résultats en employant les deux procédés.

PROCEDE MICROSCOPIQUE

Nous avons utilisé un dispositif analogue à celui de COTTON et MOUTON (1906).

Des bandes de feuilles d'étain sont fixées sur des lames porte-objet nettoyées avec soin (1). Les bandes très unies mesurent 10 millimètres de large. L'adhérence au verre est assurée au moyen d'une goutte de baume du Canada.

Deux bandes de mica permettent de donner à la préparation une épaisseur convenable. Ces bandes sont mises en place avec une goutte de baume du Canada ou plus simplement avec une goutte du liquide dispersif (2). Dans la chambre délimitée par les deux cales de mica, on introduit une quantité convenable de suspension microbienne. On recouvre la couche liquide à l'aide d'un couvre-objet rigoureusement propre. Il faut éviter les courants de convection et de diffusion; tout changement de température doit être éliminé, ce qui oblige à employer les courants de fai-

(1) Lames neuves traitées par l'acide sulfurique bouillant, par l'eau et enfin par le collodion.

(2) Dans ce dernier cas, on change de cellule avec chaque échantillon à étudier.

ble intensité. Enfin il ne faut pas oublier que les trépidations, en imprimant des secousses à la couche liquide, précipitent ou retardent le transport des corps microbiens.

La distance des électrodes est de 15 millimètres; la force électromotrice de 12 ou 16 volts suivant les espèces microbiennes considérées.

La préparation exempte de bulles d'air doit avoir une épaisseur suffisante, afin de ne faire porter l'examen que sur la couche médiane. COTTON et MOUTON (1906), dans leur étude magistrale du transport des colloïdes, ont précisé l'importance capitale de cette question. Considérons une préparation d'un colloïde négatif de $150\ \mu$ d'épaisseur. Mettons au point vers le milieu de la couche liquide: nous constatons que les granules se dirigent vers l'anode. Mais si nous enfonçons le tube du microscope, tout d'abord il n'y aura rien de changé, puis en s'approchant des parties inférieures du liquide, au voisinage de la lame porte-objet, on voit les granules se mouvoir en sens inverse; c'est-à-dire se diriger vers la cathode. De même, si nous remontons le tube et que nous mettions au point au voisinage de la lamelle couvre-objet, nous constatons que, là encore, les particules se dirigent vers la cathode. En résumé nous avons trois couches:

Une couche supérieure d'environ $25\ \mu$ d'épaisseur, se dirigeant vers la cathode;

Une couche médiane importante d'environ $100\ \mu$ d'épaisseur, se dirigeant vers l'anode;

Une couche inférieure d'environ $25\ \mu$ se dirigeant vers la cathode.

Si nous augmentons l'épaisseur de la préparation, l'épaisseur des couches inverses reste sensiblement la même, seule augmente l'épaisseur de la couche médiane. Par contre, si on diminue l'épaisseur de la préparation, « *la partie centrale du liquide s'amincit de plus en plus, les couches inverses se rejoignent et tous les granules vont vers la cathode* » COTTON et MOUTON (1906).

Ces mêmes phénomènes, nous les retrouvons bien dans le transport des Bactéries. Mais la préparation (1) étant suffisamment épaisse, les couches inverses ne constituent pas en général un obstacle sérieux à la détermination précise du sens du transport.

Quant à la mesure de la vitesse de déplacement des plastides elle est assez délicate. C'est ce qui résulte de l'examen des nombres ci-dessous, indiquant le temps de passage des plastides de *B. balticus* pour des mises au point différentes.

(1) Effectuée avec des suspensions de concentration convenable.

*Mises au point successives obtenues en enfonçant de plus en plus
le tube du microscope*

Couche médiane:	Temps de passage
1 ^{re} mise au point	12"
2 ^{me} —	12"
3 ^{me} —	16"
4 ^{me} —	18"
5 ^{me} —	25"
6 ^{me} —	40"

Ces faits montrent la nécessité de déterminer la vitesse de déplacement des plastides pour une série de mises au point différentes. On prend comme vitesse type la vitesse la plus grande.

Pour toutes les recherches effectuées avec le dispositif microscopique, il est absolument indispensable d'opérer avec de l'eau distillée ou un liquide extrêmement pauvre en électrolytes, sinon l'électrolyse rend toute étude impossible. Pendant quelques secondes, on observe un transport vers l'anode, puis les bulles gazeuses s'opposent à tout déplacement (soubresauts) et les germes sont agglutinés par les produits d'hydrolyse.

Ajoutons qu'afin de pouvoir comparer directement les temps de passage des plastides suivant un diamètre du champ, le même appareil fut employé pour toutes les mesures. Les bandes de papier d'étain étaient distantes de 15 millimètres. La différence de potentiel fut mesurée et notée pour chaque expérience. Elle variait entre 10 et 13 volts. Pour rendre nos résultats comparables, nous avons ramené nos mesures de temps de passage à ce qu'elles eussent été sous une différence de potentiel de 10 volts. Soit T ce temps calculé; si T' est le temps trouvé sous un poten-

tiel de V volts, on a la relation $T = \frac{T'}{V} \times 10$.

En général, nos lectures ont été effectuées sur les couches à vitesse maxima. Lorsque des raisons particulières nous ont conduits à opérer sur des couches différentes, nous n'en avons pas tenu compte dans l'évaluation de la vitesse moyenne.

Pour illustrer d'un exemple la façon dont nous avons procédé, nous indiquons dans le tableau, la mobilité et la différence de potentiel que présentent les plastides de *B. chlororaphis* dans les différentes couches de la préparation observée.

TABLEAU XI

	Mobilité en 10^{-4} cm./sec.	Différence de potentiel en millivolts
1 ^{re} couche	1,9	24,9
2 ^{me} —	3,00	39,5
3 ^{me} —	4,5	58,8
4 ^{me} —	5,1	67,4
5 ^{me} —	5,5	71,6

La différence de potentiel que nous attribuons à *B. chlororaphis* sera donc de 71,6 millivolts.

Malgré l'existence de couches inverses, nous venons de voir qu'il est possible, en général et sous certaines conditions, de déterminer sans ambiguïté le sens du déplacement des Bactéries. Les choses se passent tout autrement avec les *Saccharomyces*, *Cryptococcus*, *Mycoderma*, *Monilia*, etc... Pour ces germes, les couches inverses prennent autant d'importance que la couche centrale et de ce fait le sens du transport est difficile à définir.

On vient de voir les résultats obtenus par la méthode de COTTON et MOUTON. Je vais maintenant signaler le dispositif que j'ai utilisé dans mes dernières recherches et qui a été mis au point par M. le Professeur LASSEUR. L'emploi des feuilles d'étain est assez délicat; l'adhérence n'est pas toujours parfaite; il n'est pas possible de faire varier instantanément la distance entre les deux électrodes; tandis que des lames minces d'argent doré glissant à frottement sur les bords d'une plaque de verre réalisent, d'une part un contact électrode-liquide dispersif convenable, d'autre part une distance variable entre les électrodes. Pour préciser l'épaisseur de la couche liquide soumise au champ électrique, Ph. LASSEUR a substitué des petites lames de verre aux lames de mica. Il s'agit là de verres travaillés optiquement et dont le prix de revient est assez élevé.

Quelques-uns de nos résultats paraissant être en contradiction avec ceux obtenus par certains auteurs, nous nous sommes proposés de reprendre nos recherches à l'aide d'un dispositif macroscopique, et c'est ainsi que nous fûmes conduits à faire construire un appareil permettant l'évacuation rapide des produits d'électrolyse aux voisinages des électrodes,

PROCEDE MACROSCOPIQUE

Tout d'abord, en 1929, nous avons apporté les modifications suivantes à l'appareil de KOPACZEWSKI :

1° Les membranes utilisées sont des filtres en verre poreux arrêtant suffisamment les plastides pour éviter toute diffusion visible macroscopiquement du côté opposé à celui où se trouve la suspension bactérienne (1).

Ces filtres, d'une durée pratiquement indéfinie, sont d'un nettoyage rapide. Ils offrent la possibilité d'effectuer des mesures en série, et présentent, de ce fait, un avantage considérable sur les tampons de gélose précédemment utilisés.

2° La partie de l'appareil dans laquelle doit s'opérer le transport bactérien, a la forme d'un U renversé. L'éclaircissement obtenu ne peut donc pas être imputé à l'action de la pesanteur, mais bien à la force électrique. Nous insistons sur ce point que nous nous mettons dans les conditions les plus défavorables pour obtenir l'éclaircissement, et qu'ainsi nous devons pouvoir affirmer le sens du transport observé.

Le tube en U renversé dont nous venons de parler, mesure approximativement 20 cm. d'un filtre à l'autre, en suivant l'axe intérieur du tube. Ce tube plonge dans un autre tube en U contenant deux électrodes en platine. Ces électrodes sont débarrassées des produits d'électrolyse par un courant descendant du liquide suspenseur des Bactéries, arrivant par les tubulures a et b et sortant par le robinet c (fig. 5).

Nos premiers essais ont porté sur *B. balticus* et différentes souches de Colibacille. Les corps bactériens ont été soumis à trois lavages successifs dans l'eau distillée. Nous avons observé un transport incontestable et net vers le pôle positif. L'accumulation des plastides du pôle positif atteint une telle intensité qu'il ne saurait y avoir de doute sur le sens du transport.

En 1930, Ph. LASSEUR a fait établir une série d'appareils par la maison SCHOTT et GEN, d'Iéna. Nous avons alors fixé notre choix sur un appareil (fig. 6) composé essentiellement d'un tube en U fermé par des filtres en verre poreux. Le transport d'eau à travers ces filtres étant fort important, nous avons dû, pour réduire cette cause d'erreur, couler des tam-

(1) Ces filtres, ainsi que l'appareil décrit nous ont été fournis par M. le Docteur PRAUNSNITZ, Directeur de la fabrication des filtres de la maison Schott et Gen (Iéna).

pons de gélose (1). La différence de potentiel employée était alors de 220 volts. La distance entre les deux électrodes, de 19 centimètres.

Ce dispositif permet de voir à l'un des pôles, un éclaircissement total de la suspension. Grâce au disque blanc de verre poreux, *la ligne initiale*

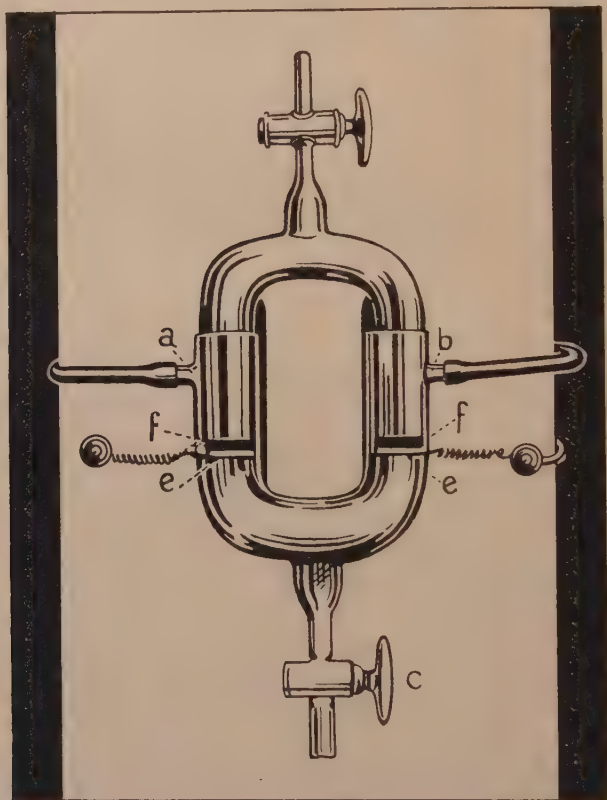


FIG. 5

Appareil servant au transport électrique des Bactéries

e: électrode;

f: disque de verre poreux.

d'éclaircissement se précise avec une netteté remarquable. Nous insistons sur ce point, car la lecture de certains travaux laisse penser que les auteurs ont attribué une charge positive ou une charge négative aux Bactéries en se basant exclusivement sur un éclaircissement partiel et faible;

(1) Gelée faite avec l'eau distillée et renfermant 3 % de gélose sèche.

or, la pratique montre que de tels résultats ne peuvent être considérés comme valables, les causes d'erreurs étant nombreuses dans ces conditions d'expérience.

A l'aide de ce dispositif et en nous conformant aux prescriptions résumées plus haut, nous avons étudié plus particulièrement le transport électrique des microbes :

1° Dans l'eau de conductibilité $K = 1 \times 10^{-6}$.

2° Dans l'eau de même conductibilité, mais additionnée de quantités

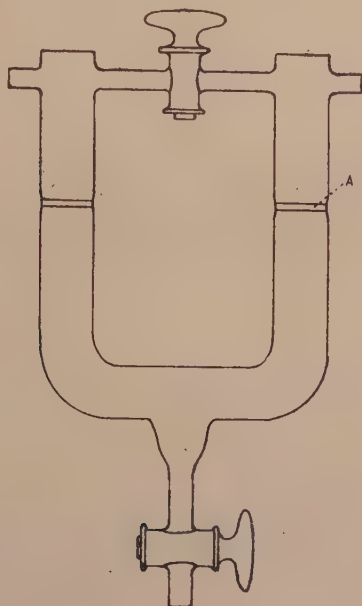


FIG. 6

A: Disque en verre poreux.

déterminées d'ions simples et complexes à charge positive simple ou triple.

3° Dans l'eau de conductibilité $K = 1 \times 10^{-6}$ additionnée de doses croissantes de NaCl et de quantités déterminées de sérum homologue.

REMARQUE I

Dans la méthode macroscopique, comme dans la méthode microscopique, les mesures doivent être effectuées en un temps très court, car il ne

faut pas oublier que la conductibilité augmente du début à la fin de l'expérience, et, avec elle, l'électroendosmose. Dans les premières secondes du passage du courant, nous constatons qu'il y a toujours un temps mort durant lequel on n'observe rien, puis brusquement, apparaît une ligne claire au pôle négatif.

Dans certains cas, la ligne s'élargit, devient une zone claire qui augmente progressivement de hauteur avec le temps; on peut même dire que sa hauteur croît en fonction du temps. Dans d'autres cas, les faits se passent un peu différemment. On note un éclaircissement partiel sur une zone assez haute qui peut atteindre 1 à 2 mm. en 15 à 20 secondes, puis brusquement toute cette zone s'éclaircit complètement et à partir de ce moment, la zone claire croît en fonction du temps. Tantôt encore, tout le ménisque est transporté, tantôt certaines parties constituent des îlots qui résistent au transport, donnant, à la limite de séparation des zones claires et opaques, une allure irrégulière.

Lorsque le transport ne s'effectuait pas de façon régulière, nous avons répété les expériences jusqu'à l'obtention de mesures correctes. La hauteur de la couche éclaircie était mesurée à l'aide du microscope horizontal de LEITZ.

REMARQUE II

Dans le procédé microscopique, la mesure porte sur une plastide, dans le procédé macroscopique la mesure porte sur l'ensemble de la population bactérienne. Il ne faut donc pas s'attendre à trouver une concordance absolue entre les valeurs déterminées par les deux procédés, bien que l'on ait pris soin, dans le procédé microscopique, d'effectuer une série de mesures avec des plastides différentes.

REMARQUE III

En 1934, nos mesures ont été effectuées sur les bases suivantes:

Dans le procédé microscopique, la distance entre les électrodes est de 2,5 cm., la différence de potentiel appliquée aux bornes est de 85 volts.

Dans la méthode macroscopique, la distance entre les électrodes est de 25 cm. 5, et la différence de potentiel entre les électrodes est de 170 volts.

La différence de potentiel entre les plastides et le liquide dispersif a

été calculée d'après la formule suivante adoptée par J.-H. NORTHROP (1924):

$$D. P. = 13 \times \frac{\mu \text{ par seconde}}{\text{volt par cm.}} \text{ en millivolts.}$$

Nous avons été amenés, dès le début de nos mesures par la méthode microscopique à étudier la meilleure concentration en plastides propre à donner de bonnes mesures. C'est pourquoi nous considérons les expériences suivantes comme des essais techniques préliminaires.

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN PLASTIDES

Les expériences ont été effectuées sur une suspension de Colibacilles obtenue de la manière suivante:

Dans un tube de culture sur gélose inclinée, après avoir éliminé l'eau de condensation, on introduit quelques centimètres cubes d'eau distillée. On met en suspension les plastides. On aspire cette suspension dans une pipette et on la divise en deux parties A et B.

C'est la partie A, amenée à une dilution appropriée aux mesures que nous appellerons dans la suite: *suspension non lavée*.

Le liquide B est centrifugé. Le culot de centrifugation est lavé trois fois à l'eau distillée. Au dernier culot on ajoute un peu d'eau distillée de manière à obtenir une suspension de concentration bactérienne de l'ordre de 150 millions de germes au centimètre cube. Soit C cette concentration dont on prépare les dilutions:

$$\frac{C}{2}; \frac{C}{4}; \frac{C}{8}; \frac{C}{16}; \text{ et } \frac{C}{32},$$

et pour lesquelles nous avons déterminé dans les mêmes conditions les temps de passage des Bactéries. Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau XII.

TABLEAU

TABLEAU XII

Dilutions —	Temps de passage exprimé en secondes	Observations
$\frac{C}{C}$		Concentration trop grande. Mesures impossibles.
$\frac{C}{2}$	15-17-18-16-16-17	Grandes difficultés dues au trop grand nombre de plas- tides.
$\frac{C}{4}$	18-20-19	Difficulté d'opérer.
$\frac{C}{8}$	20-20-21-20	Difficulté moins grande.
$\frac{C}{16}$	18-19-19-19	Mesures faciles.
$\frac{C}{32}$	23-24-21-18-19-18-17	Difficulté d'opérer: trop pe- tit nombre de plastides.

L'examen de ce tableau montre que les variations de concentration influent peu sur les temps de passage. Mais on n'arrive à ce résultat qu'au prix d'une grosse fatigue, car aux fortes concentrations, il est très difficile de repérer et de suivre une plastide pendant toute la traversée du champ microscopique. Aux faibles concentrations, on se heurte à de nouvelles difficultés. Les plastides offrent en effet des différences individuelles de vitesse souvent très notables. Il est donc nécessaire d'éliminer les éléments trop lents ou trop mobiles et de ne faire porter les mesures que sur les germes de vitesse moyenne.

Enfin, les mesures n'ont de valeur qu'autant qu'elles ont été pratiquées sur un grand nombre de germes.

Au début de toute série d'expériences, il faut déterminer les limites de concentration entre lesquelles les mesures peuvent être effectuées facilement. **Et c'est une telle suspension lavée et amenée à une dilution convenable que l'on doit employer pour faire de bonnes mesures.**

————— ∴ —————

CHAPITRE II

Transport électrique des germes mis en suspension dans l'eau bidistillée

Avant d'entreprendre l'étude du transport électrique des Bactéries mises en présence de quantités plus ou moins grandes d'électrolytes, nous avons cru intéressant d'étudier le transport électrique des germes mis en suspension dans l'eau distillée. Nous nous sommes servis pour cela d'eau de conductibilité $K = 1 \times 10^{-6}$. Nous avons employé dans ces mesures l'appareil servant au transport macroscopique avec filtres en verre poreux.

Nous avons fait cette étude en pensant que dans le phénomène de l'agglutination, on ne peut faire jouer un rôle important à la charge électrique qu'à la condition de démontrer préalablement que tous les microbes agglutinables sont chargés d'électricité de même signe. La différence de potentiel avec le liquide dispersif pouvant varier évidemment avec l'espèce microbienne considérée, nos essais ont porté sur des germes fortement, moyennement et faiblement agglutinables. Les résultats obtenus sont consignés dans les Tableaux XIII et XIV.

TABLEAU XIII

Transport des Champignons au pôle positif

Désignation de l'espèce expérimentée	Temps exprimé en secondes et au bout duquel apparaît la ligne claire	Hauteur de la zone d'éclaircissement exprimée en millimètres	
		après 2 minutes	après 3 minutes
<i>Torula colliculosa</i>	30	2	4
<i>Endomyces margaritæ</i>	5	3	4
<i>Torulaspota rosei</i>	10	3	5
<i>Saccharomyces Pastorianus</i>	6	4	5
<i>Schizosaccharomyces mellacei</i>	6	4	5
<i>Sporobolus rosei</i>	»	2	4
<i>Cryptococcus ruber</i>	5	4	6
<i>Debaryomyces Klöckeri</i>	10	3	5
<i>Mycoderma lactis</i>	»	3	5

Remarque I. — Les cultures effectuées à 37° C. et âgées de 48 heures, provenaient d'une gélose maltosée de pH = 7.

Remarque II. — *Saccharomyces ellipsoideus*, *Endomyces Chodati*, *Schizosaccharomyces octosporus* et *Nadsonia fulvescens* sont aussi transportés au pôle positif.

Remarque III. — La zone d'éclaircissement indiquée est celle de l'éclaircissement total.

TABLEAU XIV

Transport des Bactéries au pôle positif

Désignation de l'espèce expérimentée	Hauteur de la zone d'éclaircissement exprimée en millimètres et après 2 minutes
<i>B. balticus</i>	4
<i>B. fluorescens aureus</i>	10
<i>B. caryocyanus</i> BEIJERINCK-DUPAIX	8
Bacille pathogène pour les plantes	10
<i>B. fluorescens albus</i>	12 (?) (1)
<i>B. cyanogenus</i>	5
<i>B. fluorescens liquefaciens</i> (CHAPMAN)	6
<i>B. fluorescens liquefaciens</i> (HIRBQUELLWASSER)	6
<i>B. chlororaphis</i>	4
<i>B. fluorescens putidus</i>	8

Remarque I. — Les cultures sur gélose de pH = 7 sont âgées de 48 heures (température du Laboratoire).

Remarque II. — Les Bacilles dysentériques (Flexner et Y) et le Bacille paratyphique B sont aussi transportés au pôle positif. Avec les deux premiers germes, la ligne d'éclaircissement apparaît respectivement après 15 et 5 secondes (2). On observe des faits analogues avec le Colibacille, le Bacille rouge d'Essey, *B. prodigiosus*, *B. proteus*, etc...

Remarque III. — La zone d'éclaircissement indiquée est celle de l'éclaircissement total.

De l'examen des Tableaux XIII et XIV, il résulte que :

1° Tous les Champignons et toutes les Bactéries étudiés sont transportés au pôle positif, y compris les germes considérés comme chargés positivement par certains auteurs.

2° La vitesse de transport varie avec les germes considérés, mais il n'y a pas de parallélisme étroit entre l'agglutinabilité des microbes et la vitesse de transport des corps microbiens. Si *Saccharomyces ellipsoideus*,

(1) Ce nombre n'est pas certain; celui de 14 millimètres après 3 minutes est exact.

(2) Les cultures âgées de 24 heures, provenaient de cultures sur gélose.

germe peu agglutinable, est transporté très lentement, par contre un Champignon encore moins agglutinable *Nadsonia fulvescens*, est transporté avec une vitesse supérieure à celle des Champignons très agglutinables, tels que *Torula colliculosa*, *Torulaspora rosei*, *Endomyces Chodati*, etc...

On retrouve des faits du même ordre chez les Bactéries. Ainsi *B. caryocyaneus* et *B. balticus* offrent de grandes analogies au point de vue de l'agglutination (agglutinabilité, vitesse de réaction). Mais ils possèdent des vitesses de transport très différentes. Il serait facile de multiplier les exemples de ce genre.

CHAPITRE III

Variations dans le transport électrique des Bactéries en présence d'électrolytes

Nous nous sommes tout d'abord occupé du transport électrique des Bactéries en présence d'électrolytes seuls. Nous avons ensuite examiné ce qui se passe lorsque, en plus des électrolytes, on met en présence le sérum homologue agglutinant le germe en expérimentation.

Le Lecteur va trouver ci-après nos résultats sur ces deux séries de recherches.

En fin de Chapitre, nous avons étudié les variations du transport en présence des plus ou moins grandes quantités d'électrolytes provenant des milieux de culture, désirant ainsi mettre en évidence des causes d'erreurs qui ont pu se produire dans certains travaux.

A) TRANSPORT ELECTRIQUE DES SUSPENSIONS BACTERIENNES ADDITIONNEES DE DOSES CROISSANTES D'ELECTROLYTES

Dans ces essais, nous distinguons deux catégories d'électrolytes :

1° Les électrolytes incapables de précipiter les plastides bactériennes non sensibilisées par l'agglutinine.

2° Les électrolytes susceptibles de précipiter les plastides en l'absence de l'agglutinine.

1) **Electrolytes incapables de précipiter les corps microbiens en l'absence de l'agglutinine homologue.**

De tous les électrolytes pouvant être rangés dans cette catégorie, nous n'étudierons que le chlorure de sodium. Ce sel est en effet le seul électro-

lyte utilisé dans la pratique courante de l'agglutination sérique des microbes.

Dans le Tableau XV, nous avons résumé quelques-uns des résultats obtenus.

TABLEAU XV

*Transport des plastides bactériennes au pôle positif
en présence de quantités croissantes de NaCl*

Colibacille (souche F)

Concentration en NaCl exprimée en milligr. et par litre	Hauteur de la zone d'éclaircissement exprimée en millimètres après 3 minutes
0.....	12
10.....	12
100.....	10
500.....	4

Remarque. — *B. fluorescens* (Hirbquellwasser) et le Bacille rouge d'Essey (1) montrent eux aussi, une diminution de vitesse de transport à mesure que croît la concentration en électrolytes. Avec le Bacille rouge d'Essey, l'éclaircissement n'est pas total. Après le passage du courant, il reste encore en suspension environ 1/10 des germes mis primitivement en dispersion.

Il résulte de ces essais que la vitesse de transport décroît à mesure que croît la teneur en NaCl; néanmoins, toutes les suspensions sont transportées au pôle positif et cependant des doses de 300 mgr. par litre sont largement suffisantes pour assurer la précipitation des plastides chargées d'agglutinine spécifique. Par conséquent, pour des concentrations en NaCl capables de précipiter les Bactéries chargées d'agglutinine, les Bactéries sont transportées au pôle positif.

L'expérience montre que pour des concentrations de NaCl supérieures à 500 mgr., le transport devient de plus en plus difficile par suite de remous dus à la trop grande conductibilité de la solution. Mais de telles solutions n'offrent aucun intérêt dans l'étude du mécanisme de l'aggluti-

(1) Le Bacille rouge d'Essey possède des caractères intermédiaires entre ceux de *B. prodigiosus* et ceux de *B. balticus*. Le Bacille rouge d'Essey a été décrit et nommé par notre camarade COMBE (1933),

nation, à moins de vouloir étudier les complications avant le phénomène lui-même.

2) Electrolytes capables de précipiter les corps microbiens en l'absence d'agglutinine spécifique.

Dans cette classe d'électrolytes, nous considérerons: *a)* LES IONS $H+$; *b)* LES IONS $Al+++$, et enfin *c)* LES IONS COMPLEXES DES MATIÈRES COLORANTES.

Dans tous ces essais, on opère de la façon suivante: dans une série de ballons rigoureusement propres A, B, C, D (en verre résistant), on distribue 50 cm³ de suspension. Puis, à chaque ballon, on ajoute 50 cm³ d'une solution d'électrolytes. Le ballon A reçoit 50 cm³ de la solution N; le ballon B reçoit 50 cm³ de la solution N/2 et ainsi de suite. Après mélange, les ballons sont bouchés avec soin et déposés à l'étuve à 37° C. Ils sont examinés après trois à quatre heures de contact suivant l'espèce microbienne et l'électrolyte utilisé. Nous allons résumer les résultats obtenus en commençant par les ions $H+$.

a) TRANSPORT ELECTRIQUE DES SUSPENSIONS
EN PRESENCE D'IONS $H+$

À plusieurs reprises, nous avons fait des expériences d'électrophorèse en présence d'ions $H+$. Nous donnons dans les Tableaux XVI, XVII et XVIII des résultats qui, on le verra, ont été obtenus tantôt par la méthode macroscopique, tantôt par la méthode microscopique.

TABLEAU XVI

*Suspension de B. caryocyaneus BEIJERINCK-DUPAIX
additionnée de doses croissantes de HCl*

pH de la suspension après addition de HCl	Examen microscopique de la suspension (1)	Transport au pôle	Méthode macroscopique
			— Hauteur
			de la zone d'éclaircissement exprimée en millimètres après 7 minutes
—	—	—	—
4,96	Plastides isolées	+	12
2,63	Petits amas et plastides isolées	+	9 (A)
2,44	Amas moyen	+	2 (B)

Remarque I. — Lorsque l'on additionne une partie de HCl N/64 à une partie de suspension, on n'observe pas de transport appréciable des plastides même après 7 minutes.

Remarque II. — Dans ces essais, la différence de potentiel est de 120 volts.

Remarque III. — En (A) et (B), l'éclaircissement n'est pas total. La quantité des plastides transportées est d'environ 8/10 en (A) et 5/10 en (B) de la masse des plastides mises initialement en œuvre.

TABLEAU XVII

*Transport électrique
des plastides de B. caryocyaneus BEIJERINCK-DUPAIX
en fonction du pH*

Désignation des systèmes	pH des systèmes	Méthode microscopique			
		Vitesse de migration en cm/seconde par volt/cm $\times 10^{-5}$			
		EXP. 1	EXP. 2	EXP. 3	EXP. 4
—	—	—	—	—	—
A	2,2	+ 0,6 (2)	—	+ 0,2	+ 3
B	3	+ 5,5	+ 5,2	+ 5	+ 10
Témoin	eau distillée	— 67	— 27	—	—

(1) Temps de contact 3 heures.

(2) Les signes précédant les nombres indiquent la nature de la charge des plastides.

Dans ces essais, le renversement du signe de la charge est indiscutable. La vitesse de transport est plus grande à $\text{pH} = 3$ qu'à $\text{pH} = 2,2$. Nous avons essayé de faire varier le pH des systèmes par addition d'acide, afin d'apporter des quantités d'électrolytes beaucoup plus faibles.

Avec l'acide sulfurique N/2000, le système offre un pH égal à 3,72; dans ce cas, les Bactéries restent électronégatives, la vitesse de migration est de l'ordre de $5,7 \times 10^{-5}$.

TABLEAU XVIII

*Transport électrique des suspensions
de B. caryocyaneus BEIJERINCK-DUPAIX
additionnées d'acide sulfurique et d'acide chlorhydrique*

Nature des systèmes	Méthode microscopique
	Vitesse de migration en cm/seconde par volt/cm
H^2SO^4 ; $\text{pH} = 4$	$— 57 \times 10^{-5}$
HCl ; $\text{pH} = 4,07$	$— 26 \times 10^{-5}$

L'examen des Tableaux XVII et XVIII montre que dans nos essais, le point isoélectrique est sûrement compris entre $\text{pH} = 3$ et $\text{pH} = 4$ (1).

La valeur que nous lui avons attribuée: $\text{pH} = 3,5$ paraît de plus en plus se vérifier. Elle est d'ailleurs du même ordre que celles trouvées par LASSEUR et ses Collaborateurs.

Nous venons de voir que les plastides bactériennes peuvent changer de signe sous l'action des ions H^+ . Signalons que l'adsorption de ces derniers est réversible. En effet, lorsqu'on centrifuge les suspensions bactériennes additionnées de solutions tampons et qu'on remet les plastides en suspension dans l'eau distillée, on constate que ces dernières sont de nouveau électronégatives et la vitesse de migration des corps microbiens est de l'ordre de 40×10^{-5} en cm./seconde par volt/cm.

B. caryocyaneus en présence de H^2SO^4 montre des faits analogues

(1) Dans son remarquable « Précis de Chimie physique », VLES (1929) attribue aux Bactéries, les points isoélectriques suivants:

Désignation des Bactéries	Point isoélectrique
Bacille typhique	$\text{pH} = 4,4$
Colibacille	$\text{pH} = 4,0$

à ceux relatés dans le Tableau XVI; toutefois la précipitation des plastides est plus accentuée avec H^2SO^4 qu'avec HCl . Par contre, la chute de vitesse de transport est plus faible dans le cas de H^2SO^4 que dans celui de HCl . Enfin en présence de H^2SO^4 , *B. prodigiosus* S, dont la population est formée par des plastides très courtes (1), donne de gros amas très facilement transportables. C'est ainsi que pour une concentration en H^2SO^4 de N/256, on observe par la méthode macroscopique la ligne claire en dix secondes.

b) TRANSPORT ELECTRIQUE DES SUSPENSIONS ADDITIONNÉES DE SULFATE D'ALUMINE

Considérons le cas d'une suspension de *B. caryocyaneus* additionnée de 200 mgr. de sulfate d'alumine par litre. Après trois heures de séjour à $37^\circ C.$, cette suspension est complètement précipitée; soumise au champ électrique, elle montre un éclaircissement sur une hauteur de 20 mm. en sept minutes.

CONCLUSION

Avec les ions H^+ comme avec les ions Al^{+++} , la vitesse de transport diminue à mesure que croît la concentration en ions précipitants. La chute de vitesse varie avec l'espèce microbienne et l'ion précipitant utilisé. Mais, dans tous les cas, l'agglutination a lieu avant le point isoélectrique. Il y a plus: le point isoélectrique peut ne pas coïncider avec le maximum de précipitation; c'est ce qui s'observe notamment avec la suspension de *B. caryocyaneus* additionnée de son volume de HCl N/64.

c) TRANSPORT ELECTRIQUE DES SUSPENSIONS ADDITIONNÉES DE COLORANTS

Nous avons limité nos essais au rouge neutre (2), et au bleu de méthylène. Des expériences antérieures nous avaient montré que les colorants

(1) Après 5 heures de séjour à l'étuve, la suspension dont la concentration en H^2SO^4 était de N/256 était à peine rose; la suspension N/128 était nettement rose et une suspension N/64 était rouge. Nous relatons cette observation, bien que nous n'ayons pas eu le temps de la contrôler, mais elle pourra peut-être inciter un Lecteur à chercher une relation entre le pH d'une suspension de ce Bacille et sa coloration.

(2) Dans nos essais de transport, nous avons constaté que le rouge neutre et le bleu de méthylène sont transportés au pôle négatif. Il nous fut très difficile de nettoyer le filtre en verre poreux qui se trouve près de ce pôle, le rouge neutre ayant fortement pénétré dans ce filtre.

offrent une zone de précipitation très étendue, ce qui facilite l'observation du phénomène. De plus, avec certaines plastides, l'agglutination par le rouge neutre et le bleu de méthylène est très différente, car, faiblement réversible dans le cas du rouge neutre, elle est très réversible avec le bleu de méthylène.

TABLEAU XIX

*Suspension de B. caryocyaneus BEIJERINCK-DUPAIX
additionnée de doses croissantes de NaCl et de rouge neutre*

Concentration de la suspension exprimée par litre et en milligrammes de		Examen microscopique	Transport au pôle	Hauteur de la zone d'éclaircissement exprimée en millimètres après 2 minutes
Rouge neutre	NaCl			
0	0	Plastides isolées	+	8
150	0	Amas moyens et petits	+	6
200	0	Amas moyens et plastides isolées ; les plastides sont faiblement colo- rées	+	5
200	100	Uniquement des amas ; plastides colorées	+	2
400	100	Amas très gros, gros et moyens ; plastides très colorés.		Pas de transport.

Remarque. — Les suspensions renfermant 1.600 milligrammes de rouge neutre et 100 milligrammes de NaCl montrent de très gros flocons. De telles suspensions ne sont pas transportées à un pôle. Après centrifugation rapide (quelques secondes) et décantation, le culot de centrifugation est remis en suspension dans l'eau distillée. L'examen microscopique montre de gros amas et des plastides très colorés. Toutes ces plastides sont transportées au pôle +. La hauteur de la zone d'éclaircissement atteint quatre millimètres en 3 secondes.

Avec le bleu de méthylène, la vitesse de transport paraît diminuer plus rapidement qu'avec le rouge neutre. Il résulte des recherches effectuées en présence de colorants que la vitesse de transport décroît à mesure que croît la concentration du système en colorant. Le point isoélectrique ne s'observe que pour des concentrations en rouge neutre de 400 mgr. Or, les plastides sont agglutinées dès que la concentration en colorant atteint 200 mgr. **Là encore, l'agglutination a lieu avant le point isoélectrique.**

Une complication

Si on soumet au courant électrique le culot de centrifugation (1) de suspensions riches en colorant (ex.: 1.600 mgr. de rouge neutre par litre), on constate que les amas sont transportés au pôle positif. Dans cette expérience, on élimine par centrifugation et décantation, le colorant non adsorbé; puis une très faible quantité de colorant repasse en solution lorsque l'on met les plastides en suspension dans l'eau distillée. Mais la quantité de colorant qui reste adsorbée est bien supérieure à celle fixée par les plastides des suspensions renfermant 400 mgr. de colorant. Or, on sait qu'avec ces dernières, il n'y a pas de transport électrique.

Une autre complication

Lorsqu'on examine au microscope les suspensions traitées par le bleu de méthylène, on constate que des plastides peuvent être très colorées sans être agglutinées. **L'adsorption du colorant est donc une condition nécessaire mais non suffisante pour amener la précipitation des plastides. D'autres facteurs, nécessairement, interviennent dans ce processus.**

B) TRANSPORT DES BACTERIES EN PRESENCE DE SERUM HOMOLOGUE ET DE QUANTITES CROISSANTES D'ELECTROLYTES

Les expériences classiques de BORDET ont établi qu'en l'absence d'électrolytes, les plastides bactériennes fixent l'agglutinine, mais restent isolées. Si, à de telles suspensions, on ajoute des quantités convenables d'électrolytes, l'agglutination se produit. C'est une première approximation du phénomène. Des recherches récentes ont montré que des traces très faibles d'électrolytes sont nécessaires pour assurer la fixation de l'agglutinine par la plastide [Ph. LASSEUR (1921), LASSEUR et NOBLAT (1928)]. Et de ce fait, il est indispensable d'étudier le transport de systèmes (sérum + plastides) auxquels on ajoute des quantités croissantes d'électrolytes. D'ailleurs, en opérant ainsi, on évite les complications expérimentales dues à l'excès d'électrolytes (électrolyse considérable) des solutions dites physiologiques.

Nos essais ont porté sur *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX. Ce germe est doué de pouvoir agglutinogène et agglutinable très élevé. Le

(1) Remis en suspension dans l'eau distillée.

sérum employé agglutinait le germe homologue à un taux supérieur au 1/100.000.

Un examen même rapide du tableau XX montre que: **la vitesse de transport diminue quand la concentration du système en électrolytes augmente, mais l'agglutination a lieu bien avant le point iso-électrique.**

TABLEAU XX

Suspensions de B. caryocyaneus BEIJERINCK-DUPAIX

additionnées de sérum homologue dilué et de doses croissantes de NaCl

Concentration de la suspension		Examen	Transport	Temps exprimé en secondes au bout duquel apparaît la ligne claire
en sérum homologue	en miligr. de NaCl par litre	microscopique (1)	au pôle	
0	0	Plastides isolées	+	5
1/2500	4	Plastides isolées	+	10
1/2500	29	Eléments isolés	+	15
1/2500	54	4/5 des plastides isolées et 1/5 des plastides en amas petits et moyens	+	30
1/2500	104	Nombreux amas moyens	+	50
1/2500	204	Amas moyens; pas de plas- tides isolées	+	180

C) VARIATIONS DU TRANSPORT EN PRESENCE DE NOTABLES OU DE TRES FAIBLES QUANTITES D'ELECTROLYTES PROVENANT DU MILIEU DE CULTURE.

Dans un but de simplification bien compréhensible, on aurait tendance à opérer sur des suspensions microbiennes non lavées. Cette manière de faire est-elle sans inconvénients graves? Nous trouvons la réponse à cette question dans l'examen des graphiques représentés par les figures 7 à 12.

(1) Temps de contact: 4 heures.

Fig. 7. - Colibacille I

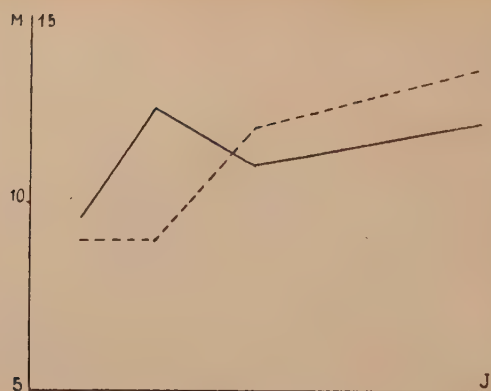


Fig. 8. - Colibacille II



Fig. 9. - Colibacille III

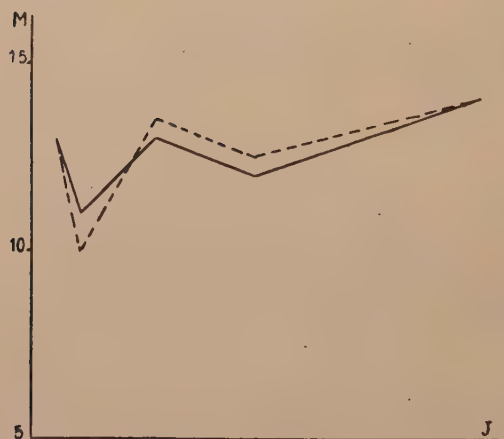


Fig. 10. - Colibacille IV



Fig. 11. - Colibacille V

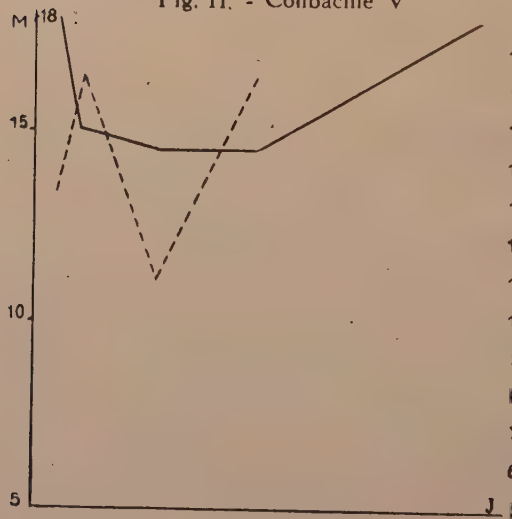
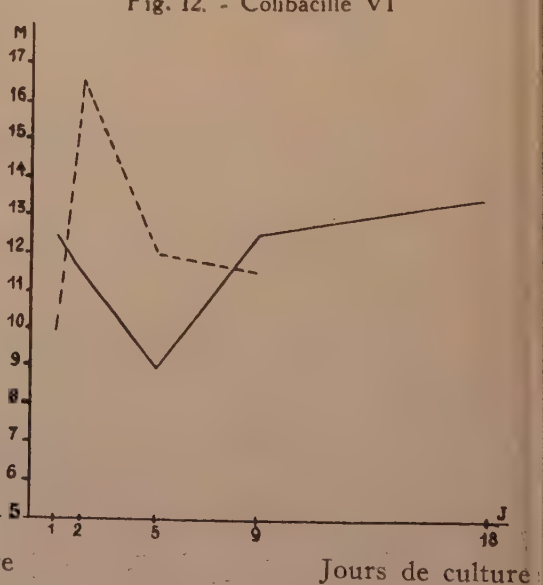


Fig. 12. - Colibacille VI



Jours de culture

Jours de culture

Les traits pleins correspondent aux suspensions lavées.

Les traits pointillés correspondent aux suspensions non lavées.

Nous constatons que les écarts dûs aux erreurs de lectures sont plus grands en général pour les suspensions non lavées que pour les suspensions lavées. Il y a plus : les lectures ne sont possibles avec les suspensions non lavées que durant très peu de temps, car les effets d'hydrolyse se font sentir d'une manière sensible, même après quelques secondes de passage du courant. Rapidement des dégagements gazeux se produisent, déterminant des soubresauts dans la préparation et rendant toute mesure réelle impossible.



CHAPITRE IV

Influence de l'âge et du chauffage des Bactéries sur leur transport dans le champ électrique

A) VARIATIONS DU TRANSPORT ELECTRIQUE AVEC L'AGE DES BACTERIES

Remarquons tout d'abord, que pour expérimenter, dans des conditions normales, il faut se limiter à des âges de Bactéries compris, par exemple, entre 1 et 18 jours (1). Des délais plus grands seraient dénués d'intérêt car pour les germes asporogènes, on opérerait surtout sur des plastides autolysées ou en voie de dégénérescence; et celles-ci ne seraient nullement comparables à des plastides normales.

Nous avons cru bon d'étudier la variation du transport électrique avec l'âge, d'une part chez les Bactéries asporogènes, d'autre part chez les Bactéries sporogènes.

BACTERIES ASPOROGÈNES

Nous avons opéré tout d'abord sur un germe asporogène. Pour augmenter les chances de succès, nous avons utilisé six souches de Colibacille mises gracieusement à notre disposition par Monsieur le Professeur LEGROUX, de l'Institut Pasteur de Paris. Le Colibacille offre, en effet, des souches peu ou pas agglutinables et de ce fait les variations de la charge devraient être beaucoup plus sensibles avec cette espèce qu'avec des germes hautement agglutinables, tels que le Bacille typhique et les Bacilles chromogènes en général.

(1) Et encore, pour certaines espèces bactériennes, ce délai de 18 jours est certainement trop grand.

Nous avons opéré sur six variétés de Colibacilles que nous désignerons pour la commodité de cet exposé sous la rubrique ci-dessous :

Colibacille N° 1 (1)	Colibacille N° 4
Colibacille N° 2	Colibacille N° 5
Colibacille N° 3	Colibacille N° 6

Nous avons résumé dans le tableau XXI les résultats fournis par l'expérimentation. Certaines valeurs sont trouvées; d'autres sont calculées. En effet, le nombre moyen de secondes M que nous retrouvons dans le tableau est le temps moyen exprimé en secondes que met une plastide pour traverser le champ microscopique suivant un diamètre, sous un potentiel ramené à 10 volts et dans les conditions de l'expérience. Il n'est pas obtenu en prenant la moyenne des temps de passage T, mais la moyenne des meilleures mesures; car un nombre trop grand indique, ou bien un effet d'hydrolyse, ou bien une mesure effectuée dans une couche autre que celle à vitesse maxima.

TABLEAUX

(1) N° 1 = souche X; N° 2 = souche selles; N° 3 = souche G; N° 4 = souche phénologène; N° 5 = souche L; N° 6 = souche H.

TABLEAUX

Age de la culture	Colibacille N° 1			
	Suspensions lavées		Suspensions non lavées	
	T. Observations	M.	T. Observations	M.
1 jour de culture étuve à 37° C.				
	9,5	Couche	9	
	9,5	à vitesse	9,5	9
	9,5	maxima		
	9,5		16	dû à
2 jours de culture étuve à 37° C.	12		16	à l'hydrolyse
	12,5	autres couches		
	17,5			
	13		10	
	11,5		10	
5 jours de culture étuve à 37° C.	13	12,5	9	9
	13		9	
	14		10	
	16			
	14			
	11		11,5	
	11	11	12,5	12
9 jours de culture dont 5 à l'étuve à 37° C...	11		13	
	11			
	15		20	
	11,5		13	
	13		14	
18 jours de culture dont 5 à l'étuve à 37° C. .	12	12	17	13,5
			15	

T: temps de passage calculé pour une différence de potentiel de 10 volts et exprimé en secondes.

M: temps moyen exprimé en secondes.

Colibacille N° 2				Colibacille N° 3			
Suspensions lavées		Suspensions non lavées		Suspensions lavées		Suspensions non lavées	
T.	M.	T.	M.	T.	M.	T.	M.
				12		14	
				16		20	
				13		12	
				13	13	14	13
				14,5		13	
				13			
				16			
				20			
11		9,5		10		11,5	
12		8		11,5		10	
11,5		8		13		10,5	
15		8,5		12		11,5	
16	10,5	8,5	8	12	11	10	10
11		9					
12		9,5					
10							
10							
12		11		12,5		16,5	
12		10,5		13		13	
11,5	12	11	11	13	13	14	13,5
12		11,5		16,5		14	
12,5		11,5		16,5			
		12					
11,5		14,5		11,5		12,5	
11,5		16,5		12,5		15	
12,5	11,5	17,5	14,5	12,5	12	12,5	12,5
12,5		20				12,5	
12,5							
16,5							
14		11,5		15,5		15,5	
16,5		12,5		14,5		13,5	
16,5		12		13,5		14	
20	14	13	11,5		14		14
18							
16,5							
14							

(Suite du tableau page suivante)

Age de la culture	Colibacille N° 4			
	Suspensions lavées		Suspensions non lavées	
	T.	M.	T.	M.
1 jour de culture étuve à 37° C.	12		12	
	12		13	
	13	12	14	11,5
	15		13,5	
	14		11	
	16		11,5	
2 jours de culture étuve à 37° C.	12		10,5	
	10		10	
	12	11,5	11,5	10,5
	13		13	
	13		11,5	
	16		13	
5 jours de culture étuve à 37° C.			12	
	14		20	
	14,5	14	15,5	15,5
9 jours de culture dont 5 à l'étuve à 37° C...	15		15,5	
	12,5		12,5	
	12,5			
	14	12,5	12,5	12,5
	16,5			
18 jours de culture dont 5 à l'étuve à 37° C. .	15,5			
	12,5		14,5	
	12	12	15,5	14,5
	11,5		14,5	

T: temps de passage calculé pour une différence de potentiel de 10 volts et exprimé en secondes.

M: temps moyen exprimé en secondes.

XI (suite)

Colibacille N° 5				Colibacille N° 6			
Suspensions lavées		Suspensions non lavées		Suspensions lavées		Suspensions non lavées	
T.	M.	T.	M.	T.	M.	T.	M.
18		23		12		10	
21		12,5		12,5		14,5	
17	18	15,5	13,5	13	12,5	10	10
20		14		14,5			
20							
14		16,5		11,5		16,5	
16,5		16,5		11,5		17	
16,5	15	17	16,5	11,5	11,5	16,5	16,5
15,5		20		11,5			
		19,5		14			
				16,5			
14		10,5		9		10,5	
14,5	14,5	11,5	11	9	9	12,5	12
15,5		12,5		9		12,5	
				15,5		12,5	
15,5		15,5		12,5		11,5	
15		17,5		12,5		12,5	
14	14,5	17	16,5	13	12,5	11,5	11,5
15,5		18		13			
23				14			
21	18			13	13,5		
24,5				14,5			
18							
18							

Dans tous nos essais sur le Colibacille, les Bactéries sont transportées au pôle positif. Elles sont donc toutes chargées négativement. De plus, il n'y a pas de variations sensibles de la vitesse du transport, à moins que ces variations ne soient très faibles et d'un ordre inférieur ou égal à la précision de la méthode employée. D'après les renseignements fournis par la littérature, il ne semble pas que les méthodes utilisées par les autres expérimentateurs soient d'une précision plus grande que celle que nous avons décrite. Nous confirmons donc les résultats obtenus par la majorité des auteurs.

BACTERIES SPOROGENES

A la rigueur, on pourrait admettre que le choix de notre matériel bactérien fut défectueux. Mais, s'il en était ainsi, on devrait pouvoir trancher la question en s'adressant à un matériel où les différents stades de l'évolution seraient plus accentués, notamment aux germes sporogènes. A cet effet, nous avons déterminé la vitesse du transport de spores, de suspensions mixtes de spores et de bâtonnets germinatifs (spores en germination) et de suspensions de sporanges de *B. mesentericus niger*.

Les spores ont été lavées trois fois. Les suspensions mixtes ont été obtenues en partant de spores provenant de cultures (sur carottes) âgées de huit mois. Les spores étaientensemencées dans une quantité convenable d'eau peptonée et abandonnées 3 heures à l'étuve à 37° C. Après ce laps de temps, les systèmes en germination ont été centrifugés. Après centrifugation, le culot lavé trois fois donnait la suspension lavée.

Désignation des suspensions étudiées		Temps de passage exprimé en secondes
—		—
Suspension de spores seules.		20-15-14-14
Suspension mixte	{ Spores.	17-17-17
	{ Petits bâtonnets.	17-17
	{ Grands bâtonnets.	17-17

Dans ces essais, spores et bâtonnets germinatifs vont au pôle positif et à la même vitesse. Tous ces éléments sont chargés négativement. Les formes végétatives plus âgées se comportent de la même façon.

Les suspensions mixtes offrent une particularité qu'il importe de signaler. Au bout d'un temps relativement très court, on ne perçoit plus nettement la couche inverse supérieure, ce qui s'explique par la sédimentation partielle du matériel transporté. En effet, la couche inverse inférieure

présente une importance particulièrement exceptionnelle et renferme beaucoup de gros bâtonnets.

En résumé, **avec les Bactéries sporogènes expérimentées, nous n'avons jamais observé de relation entre la vitesse de transport et l'âge des plastides, bien que nous nous soyons placé dans les conditions les plus favorables à la mise en évidence de ce phénomène.**

Nous allons maintenant examiner l'influence du chauffage des Bactéries sur leur charge électrique.

B) TRANSPORT ELECTRIQUE

DES SUSPENSIONS BACTERIENNES CHAUFFEES A 80° C.

On sait que les Bactéries chauffées à 80° C. perdent généralement la faculté de précipiter par l'action du sérum homologue, quelle que soit la quantité d'électrolytes utilisés.

Or, si on soumet au transport électrique deux parties d'une suspension de *B. varyocyaneus* dont l'une est chauffée à 80° C. durant vingt minutes, on constate que la partie chauffée, additionnée de 1.000, 10.000, 100.000 unités d'agglutinine, reste homogène. L'agglutination ne se produit pas. Il y a donc une différence énorme dans la stabilité des deux émulsions. Or, les vitesses de transport de la suspension chauffée et de la suspension non chauffée sont, ou identiques, ou du moins très voisines.

Nous indiquons ci-dessous les temps moyens obtenus dans une série d'expériences

Suspension non chauffée: 10 secondes.

Suspension chauffée: 10 secondes.

Dans le cas du chauffage, il n'existe donc pas une relation directe entre le potentiel et la stabilité des suspensions.

CHAPITRE V

Influence de l'espèce bactérienne de la souche et du type dissocié dans l'électrophorèse

A) INFLUENCE DE L'ESPECE BACTERIENNE

Certains Biologistes, et non des moindres, évitent parfois de définir avec précision ce qu'ils entendent par espèce. Si l'on éprouve des difficultés à donner une définition générale de l'espèce lorsqu'on étudie des êtres dits supérieurs, à l'organisation très compliquée, on conçoit que les difficultés sont singulièrement augmentées lorsque l'étude porte sur des êtres unicellulaires. Si la structure des Bactéries ne fournit pas toujours de nombreux points de repère à l'observateur, le Bactériologiste moderne ne définit plus une Bactérie par un caractère; il s'inspire de la grande découverte de B. et A. DE JUSSIEU: la subordination des caractères. C'est ainsi qu'à titre d'exemple, nous citerons la production de prodigiosine qui permet d'identifier si facilement *B. prodigiosus* et qui peut faire défaut. C'est donc par l'ensemble de ses autres attributs et notamment par ses caractères sérologiques qu'un type achromogène de *B. prodigiosus* peut être identifié. De même que la fonction chromogène, tous les caractères des Bactéries sont sujets à des fluctuations plus ou moins importantes. On ne doit donc pas négliger l'étude de tout ce qui peut contribuer à la caractérisation des formes bactériennes et c'est un des motifs pour lesquels nous avons consacré de nombreuses années à étudier la charge électrique chez différents germes et différentes espèces microbiennes.

Remarquons tout d'abord qu'au cours des recherches précédemment exposées, nous avons déjà étudié le transport électrique de nombreuses espèces bactériennes.

C'est ainsi que nous nous sommes occupé tour à tour et entre autres de *B. chlororaphis*, de 6 souches différentes de Colibacille, de *B. balticus*, de *B. fluorescens aureus*, de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX, de *B. fluorescens albus*, de *B. cyanogenes*, de *B. fluorescens liquefaciens*, etc...

Toutes ces Bactéries en suspension dans l'eau bidistillée se transportent au pôle positif ; toutes sont chargées négativement.

Mais nous avons aussi étudié le phénomène sur des plastides que certains auteurs considèrent comme chargées positivement. Ce sont les Bacilles dysentériques de FLEXNER et de HISS. Afin d'éviter des causes d'erreurs possibles, nous indiquons ci-dessous les valeurs obtenues pour des mises au point méthodiques allant des couches les plus profondes aux couches supérieures des préparations :

Espèces étudiées	Sens du transport	Temps de passage en secondes	Observations
B. dysentérique de FLEXNER. ...	a) vers le pôle négatif	21	Couche inverse inférieure.
	b) vers le pôle positif	23	
	c) vers le pôle positif	19	Couche directe.
	d) vers le pôle positif	20	
	e) vers le pôle positif	23	
	f) vers le pôle négatif	28	Couche inverse supérieure.

Au point de vue de leur épaisseur, les trois couches se plaçaient dans l'ordre décroissant suivant : couche inférieure (la plus importante), couche médiane, enfin couche supérieure. En ce qui concerne le Bacille de HISS, trois mesures faites dans la couche médiane nous ont donné, comme temps, 30, 25 et 18 secondes et comme sens, un déplacement vers le pôle positif.

L'observation ayant été plus rapide pour Bacille dysentérique de HISS que pour Bacille dysentérique de FLEXNER, l'épaisseur relative des couches était modifiée comme suit :

Une couche inverse inférieure et une couche directe de même importance. Une couche inverse supérieure un peu moins importante que les précédentes.

CONCLUSION. — Les recherches résumées dans tous les chapitres précédents montrent que les Bactéries expérimentées en suspension dans

l'eau distillée, sont transportées vers le pôle positif, même celles qui sont considérées comme « *positives* » par quelques auteurs.

Dans les essais utilisant comme milieu dispersif, non plus de l'eau aussi pure que possible, mais de l'eau renfermant une certaine concentration en ions H^+ , il est possible tout d'abord d'abaisser la charge électrique, de passer au point isoélectrique, puis d'arriver à une charge de sens inverse et dont la valeur absolue est au moins égale à celle des Bactéries au départ de l'expérience.

Nous avons alors étudié d'une façon méthodique si les vitesses de transport des Bactéries en suspension dans l'eau distillée varient d'une espèce microbienne à l'autre. Rappelons qu'au cours de nos recherches précédentes, nous avons noté, sur l'appareil de transport macroscopique des hauteurs de la zone d'éclaircissement, après 2 minutes de passage du courant :

- De $4 \frac{m}{m}$ pour *B. balticus*;
- De $10 \frac{m}{m}$ pour *B. fluorescens aureus*;
- De $8 \frac{m}{m}$ pour *B. caryocyanus* BEIJERINCK-DUPAIX;
- De $10 \frac{m}{m}$ pour le Bacille pathogène pour les plantes;
- De $5 \frac{m}{m}$ pour *B. cyanogenes*;
- De $6 \frac{m}{m}$ pour *B. fluorescens liquefaciens* (Chapman);
- De $6 \frac{m}{m}$ pour *B. fluorescens liquefaciens* (Hirbquellwasser);
- De $4 \frac{m}{m}$ pour *B. chlororaphis*;
- De $8 \frac{m}{m}$ pour *B. fluorescens putidus*.

Nous avons encore fait une série de mesures sur d'autres Bactéries. Les résultats obtenus sont exposés dans le Tableau XXII.

TABEAU XXII

*Mobilité et différence de potentiel de diverses
plastides bactériennes*

Désignation des espèces bactériennes	Méthode microscopique		Méthode macroscopique	
	Mobilité en 10^{-4} cm./sec. volt/cm.	D. P. en millivolts.	Mobilité en 10^{-4} cm./sec. volt/cm.	D. P. en millivolts
<i>B. subtilis</i> (MICHIGAN):				
(1) D. P. maximum.....	11	143,3	11,07	144
D. P. la plus fréquente.....	7	91	7,3	95
<i>B. mesentericus niger</i> :				
D. P. maximum.....	12,3	159,9	10,07	131
D. P. la plus fréquente.....	3,2	42,63	10	130
<i>B. chlororaphis</i> :				
D. P. maximum.....	5,1	67	3,2	41,8
D. P. la plus fréquente.....	3	39,5	2,9	38,2
<i>B. pyocyaneus</i> var. pyocyanogène.	4,2	54,6		
<i>B. balicus</i>	8,8	114,7		
<i>B. caryocaneus</i>				
D. P. maximum.....	7,3	95,5		
D. P. la plus fréquente.....	4,2	54,6	4,17	54,2

(1) D. P.: Différence de potentiel.

Ainsi qu'il fallait s'y attendre, **les vitesses de transport varient d'une espèce microbienne à l'autre, mais dans une même suspension le facteur individuel peut jouer un rôle considérable.** C'est ce qui s'observe notamment avec *B. caryocyanëus*, *B. balticus*, *B. pyocyaneus*, *B. chlororaphis*.

Avec *B. mesentericus niger*, nous nous heurtons à une autre complication : aux écarts importants observés entre les valeurs déterminées par la méthode macroscopique et les valeurs obtenues par la méthode microscopique. Une cause de ces discordances réside évidemment dans les différences de charge individuelle ; mais ce facteur n'est pas suffisant pour expliquer que l'on puisse obtenir dans un cas une D. P. égale à 42 millivolts, dans l'autre cas une D. P. égale à 130 millivolts.

Sous ces réserves, nous constatons que les germes sporogènes « *prenant le GRAM* » ont, en général, une différence de potentiel plus élevée que les Bactéries ne se colorant pas par la méthode de GRAM (1).

B) INFLUENCE DE LA SOUCHE BACTERIENNE

Nous venons de voir que la charge des plastides bactériennes varie dans des proportions assez importantes lorsqu'on considère des Bactéries prenant le Gram ou des Bactéries ne prenant pas le Gram. Dans chacun de ces grands groupes, on observe des variations beaucoup plus faibles, mais la variation de la charge en fonction de l'espèce laisse prévoir des variations chez les différentes souches d'une même espèce. On avait plus de chances d'observer de telles variations en s'adressant au Colibacille, qui, on le sait, ne constitue pas une bonne espèce. On a décrit sous le nom de Colibacilles des souches bactériennes très différentes. L'étude méthodique de la variation chez les Bactéries rendait possible la prévision de ce manque d'homogénéité, mais il faut songer aussi aux impuretés. Les cultures de Colibacilles isolés de l'intestin ou du milieu extérieur peuvent en effet être souillées par des Bactéries satellites. Sous ces réserves, le Colibacille devenait un matériel très favorable à l'étude de la variation de la charge chez les différentes souches d'une même espèce bactérienne.

Nos expériences ont porté sur 6 souches de Colibacille au sujet desquelles, le Lecteur peut s'en rappeler, nous avons étudié l'influence de l'âge sur l'électrophorèse.

(1) WINSLOW et UPION (1925) n'avaient pas trouvé de relations étroites entre la charge électrique des Bactéries et leur vitesse de coloration dans la méthode de GRAM.

Le Tableau XXIII qui résume les résultats obtenus, peut être examiné à différents points de vue; on y constate que:

1° La vitesse du transport varie avec la souche.

2° Si on essaie de réaliser un classement par ordre de mobilité croissante, on constate, à peu de chose près, le même classement des 6 souches, qu'elles soient âgées de 2, de 6, de 9 ou de 18 jours.

On observe également des différences dans les vitesses de transport en expérimentant sur 3 souches de *B. subtilis*, comme on peut le voir par l'examen du Tableau XXIV.

TABLEAU XXIII
*Comparaison des vitesses de transport des différentes souches
d'une même Bactérie (Colibacille)*

Age de la culture	Temps moyen exprimé en secondes et mis par une plastide pour traverser le champ microscopique suivant un diamètre					
	Souche X	Souche selles	Souche G	Souche phénologène	Souche H	Souche L
2 jours....	9,5	10,5	11	11,5	11,5	15
5 jours....	12,5	12	13	14	9	14,5
9 jours....	11	11,5	12	12,5	12,5	14,5
18 jours....	12	14	14	12	13,5	18

TABLEAU XXIV
*Mobilité et différence de potentiel de 3 souches
de B. subtilis*

Désignation des espèces bactériennes	Méthode microscopique		Méthode macroscopique	
	Mobilité en 10^{-4} cm./sec.	D. P. en millivolts	Mobilité en 10^{-4} cm./sec.	D. P. en millivolts
	volt/cm.		volt/cm.	
<i>B. subtilis</i> (MICHIGAN):				
D. P. maximum	11	143,3	11,07	144
D. P. la plus fréquente	7	91	7,3	95
<i>B. subtilis</i> (MARBURG):				
D. P. maximum	11,7	152,6	10,15	132
D. P. la plus fréquente	7,6	100	7,5	98
<i>B. subtilis</i> (NEISSER)	8,5	111	8,2	108

CONCLUSION. — Il est incontestable que, dans les cas étudiés, la mobilité varie avec la souche bactérienne.

C) INFLUENCE DU TYPE DISSOCIE

Nous avons vu que toutes les plastides d'une même population bactérienne n'offrent pas la même différence de potentiel. Avec la charge électrique, nous retrouvons les mêmes règles que l'on observe dans l'étude de la variabilité des caractères d'une espèce bactérienne. C'est l'ensemble de la population qui imprime son cachet particulier à la souche que l'on étudie. Mais, entre le type moyen et les types extrêmes, il y a évidemment des différences plus ou moins grandes.

Depuis nos premières recherches, il est une notion qui s'est précisée de plus en plus dans le domaine de la Microbiologie; c'est celle de la dissociation microbienne.

On sait que le Bacille typhique, par exemple, peut présenter 2 types: l'un qui offre l'ensemble des caractères classiques décrits dans les manuels: germe mobile à fouets plus ou moins nombreux; l'autre, complètement dépourvu de fouets; les magnifiques photographies que vient de publier PIJPER (1938), nous montrent comment l'agglutination du type flagellé diffère de l'agglutination du type dépourvu de flagelles.

En somme, bien que n'ayant en vue que le phénomène de l'agglutination, nous avons fait intervenir la notion de dissociation microbienne. Et nous sommes ainsi conduit, non pas à étudier la charge électrique en tant que caractère de différenciation, comme l'a fait d'une façon si remarquable SEIGNEURIN, mais en tant que paramètre de l'agglutination. Il y a peut-être là une subtilité de langage et cependant, elle peut être prise en considération, puisqu'elle nous a fait recommencer une série d'expériences.

On sait que SEIGNEURIN avait mis en évidence une charge négative chez les Staphylocoques, Streptocoques, *Corynebacterium*, *Pasteurella*, *Bac. coli*, Bacilles de Kock, Bacilles dysentériques, *Brucella*, Bacilles d'Eberth, Bacilles paratyphiques A, tandis que les Bacilles paratyphiques B et les *Salmonella* se comporteraient comme une population mixte; certaines plastides étant chargées négativement et d'autres positivement.

Déjà en 1936, SEIGNEURIN essayait de différencier les différents types ou races par leur mobilité dans le champ électrique.

Au premier Congrès International de l'Association des Microbiologistes de langue Française (octobre 1938), SEIGNEURIN rappelle que:

« Les bacilles paratyphiques B se présentent, en cultures, comme constitués de deux sortes de germes: les uns chargés d'électricité négative, les autres chargés d'électricité positive. Nous nous sommes attaché à les

dissocier et nous sommes arrivé à obtenir des cultures pures de chacun d'eux.

« Cette dissociation s'obtient en soumettant à l'action d'un champ électrique une émulsion en eau distillée stérile de cultures de para B. L'ensemencement des liquides anodique et cathodique se fait, non pas sur milieux ordinaires, car on obtiendrait de nouveau le mélange initial, mais sur des milieux liquides spéciaux de pH relativement acide et d'ailleurs approprié aux deux sortes de germes. Par dissociations électrophorétiques et ensemencements successifs, on finit par obtenir des cultures pures de para B électro-positifs et de para B électro-négatifs.

« Par vieillissement, il apparaît dans les cultures de bacilles positifs des éléments négatifs. La propriété électro-positive semble donc être l'apanage des germes jeunes: le vieillissement entraîne une négativation des charges.

« Nous nous sommes demandé si la morphologie des colonies sur milieu de culture solide permettait une distinction entre les germes positifs et les négatifs. A première vue, il ne semble pas; nos recherches sont d'ailleurs en cours.

« La détermination du pouvoir pathogène et antigénique des souches positives et des souches négatives exige des expériences de très longue haleine; néanmoins, dès maintenant, il nous paraît que les souches de para B électro-positives sont beaucoup plus virulentes que le para B ordinaire (pour le lapin et le cobaye). Néanmoins, elles paraissent peu antigéniques du fait que le sérum agglutinant obtenu par leur injection au lapin ne dépasse pas le titre de 1/400.

« Des essais de réinfection croisée montrent que les souches positives confèrent une immunité s'exerçant aussi pour les souches normales de para B: la réciproque n'est pas vraie.

« Signalons, pour terminer, que nous sommes arrivé à isoler également des souches positives et des souches négatives du bacille d'Eberth, et que nous étudions actuellement leurs propriétés biologiques. En opérant dans des conditions spéciales, il semble que le phénomène de dissociation électrophorétique s'étende à de nombreux autres germes. »

Cette remarquable communication a provoqué un échange de vues entre Monsieur le Professeur LISBONNE, Monsieur BOIVIN, Mademoiselle CHOUCROUN et Monsieur SEIGNEURIN.

« Tout d'abord, Mademoiselle CHOUCROUN intervint en ces termes:

« M. SEIGNEURIN signale l'isolement, à partir du bacille paratyphique

B typique, de deux souches, l'une électro-positive, l'autre électro-négative, recueillies respectivement au pôle négatif et au pôle positif d'un appareil à électrophorèse.

« Il semble qu'il y ait une erreur d'interprétation des résultats. Nous savons, en effet, que, par reflux hydrostatique (conséquence de l'osmose électrique), le liquide enfermé dans un tube parcouru par un courant peut ramener des particules chargées vers l'électrode qui les chasse, avec une vitesse d'autant plus grande que leur charge est plus petite.

« Les bacilles dits positifs recueillis au pôle négatif par M. Seigneurin seraient seulement des bacilles négatifs moins faiblement chargés que ceux recueillis au pôle positif.

« Les résultats biologiques intéressants trouvés par M. Seigneurin montreraient que des souches d'électrisation différentes ont des propriétés chimiques et biologiques différentes, ce qui est conforme aux suggestions que mes recherches sur le bacille tuberculeux et le bacille pyocyanique m'ont amenée à faire (C. R. Acad. des Sciences, 202, p. 1711 et 1822). »

A priori, on conçoit que l'électroosmose puisse au moins perturber les mesures de transport électrique. Si ces mesures sont effectuées durant un laps trop long de temps, le « reflux hydrostatique » peut mécaniquement entraîner des plastides vers un pôle dont elles seraient chassées du fait de leur charge. Cependant Monsieur le Professeur LISBONNE a fait une objection qui paraît très justifiée. Si l'électroosmose était responsable du transport au pôle négatif de certains Bacilles paratyphiques B, on devrait observer ce fait, non seulement avec les paratyphiques B, mais encore avec tous les germes en expérimentation.

Monsieur BOIVIN qui s'est consacré à l'étude des antigènes et des anticorps et notamment à l'étude du complexe glucido-lipidique, a fait très justement remarquer :

« Que les divergences entre les résultats obtenus par M. SEIGNEURIN et par M^{me} CHOUCROUN, dans l'électrophorèse du bacille paratyphique B, peuvent tenir au fait que les auteurs n'ont pas travaillé avec la même souche. Les souches de collection de para B sont susceptibles de renfermer, dans des proportions très variables d'un cas à l'autre, au moins six variantes bactériennes :

Smooth cilié, en phase spécifique;
Smooth cilié, en phase non spécifique;

Smooth immobile;
Rough cilié, en phase spécifique;
Rough cilié, en phase non spécifique;
Rough immobile;

et l'on peut s'attendre à ce que ces variantes n'aient pas toutes exactement les mêmes propriétés électrophorétiques. »

Signalons enfin que dans leur étude sur le mécanisme de l'accolement de l'Epiploon aux portions lésées de la cavité péritonéale, le regretté J. CANTACUZENE et Mademoiselle Eugénie SORU (1931) ont déterminé les vitesses de déplacement de toute une série de Bactéries dans un champ électrique.

Les valeurs trouvées par les savants roumains offrent évidemment de grandes variations. C'est ainsi qu'un Bacille d'Aertryke R. offre une vitesse de déplacement de 1 minute, tandis qu'un Bacille d'Aertryke S. offre une vitesse de déplacement de 15 minutes.

Le Laboratoire de Monsieur le Professeur LASSEUR, possédant un grand nombre de types dissociés, il nous était facile de vérifier si certains des faits que nous avons observés pouvaient trouver une explication dans la dissociation microbienne. C'est donc à l'étude de la variation de la charge ou plus exactement de la mobilité avec les différents types dissociés que nous avons consacré nos dernières recherches.

MATÉRIEL BACTÉRIEN UTILISÉ ET TECHNIQUE.

Nos essais ont porté sur des types R et S de *B. chlororaphis*, de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX, et de *B. lactis niger* GORINI. Ces cultures ont eu pour origine une seule plastide; elles sont cultivées depuis plusieurs années au Laboratoire de Monsieur le Professeur LASSEUR sans montrer de rétrogradation de la dissociation.

Notre choix a été imposé par la double nécessité d'opérer sur du matériel bactérien stable et d'obtenir des suspensions aussi « homogènes » (1) que possible. De plus, les Bactéries devaient être agglutinables. Enfin, il fallait avoir à faire à une espèce bactérienne sûrement identi-

(1) Le Lecteur ne se trompera pas sur le sens que nous donnons au mot : homogène, surtout quand nous aurons fait remarquer qu'avec certains types Rb, par exemple, la dissociation des voiles, l'isolement des plastides sont extrêmement difficiles.

fiable soit par ses caractères de culture, soit par ses caractères antigéniques.

Nous avons utilisé l'appareil en U à disques de verre poreux de transport macroscopique décrit précédemment (page 93). Les suspensions, soumises au champ électrique, étaient toutes de même opacité. Celle-ci était, en effet, comparée à l'aide d'un photolorimètre à cellules photo-électriques montées en différentiel. La teneur en germes de la suspension était en outre déterminée par ensemencement sur plaque de gélose et numération.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

Dans le Tableau XXV sont consignées les recherches effectuées avec les types dissociés des 3 espèces microbiennes différentes.

TABLEAU XXV

Bactérie expérimentée	Type dissocié	Apparition d'une ligne claire au pôle négatif au bout de: (en secondes)	Hauteur de la zone d'éclaircissement total au pôle négatif au bout de: (en millimètres)				Observations
			1 minute	2 minutes	3 minutes	4 minutes	
<i>B. caryocyanus</i>							
BEIJERINCK-DUPAIX	Ra	10	1,5	2	4	5	
	Rb	instantanée	3	4	6	8	
<i>B. chlororaphis</i> ?	Ra	Instantanée	3	4,5	5	10	
	Rb	instantanée	3	8	12	remous	
	S	6	2	4	5	9	
	Ra	7	2,5	3	8	10	Très grande netteté
<i>B. lactis niger</i> GORINI	Rb	12	2	3	éclaircissement partiel sur 8	zone très brouillée	
	S	3	3	4	7	10	Très grande netteté

L'examen de ce Tableau conduit aux conclusions suivantes :

1° Les différents types dissociés d'une même espèce microbienne ne possèdent pas la même mobilité dans le champ électrique.

2° Il est possible, lorsqu'il y a plusieurs types dissociés, de constituer 2 groupes à mobilité différente. Nous avons remarqué, en effet, que les types Ra et S avaient une mobilité sensiblement du même ordre et que le type Rb se différenciait des 2 précédents par une vitesse de transport tantôt plus grande, tantôt plus petite.

En somme, nous retrouvons là une confirmation des faits signalés par BOIVIN (1), mais comme, d'autre part, nous n'avons pas expérimenté sur le même matériel que SEIGNEURIN (1), il ne nous a pas été donné d'observer des variations aussi importantes que celles des savants montpeliérains.



(1) Compte rendu du premier Congrès international de l'Association des Microbiologistes de langue française. Institut Pasteur, Paris, 27, 28 et 29 octobre 1938.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les mesures de transport électrique par la méthode microscopique permettent de comparer les vitesses de déplacement de différentes plastides. Malheureusement, cette méthode, quelles que soient les précautions prises, comporte certaines causes d'erreurs, entre autres celles provenant de l'existence des couches inverses. La méthode microscopique permet d'observer des valeurs variant de l'ordre de 1 à 60.

*
* *

La méthode macroscopique a, elle aussi, des inconvénients. Elle exige une quantité de matériel bactérien importante. De plus, on n'obtient pas toujours un éclaircissement total de la suspension dans une des branches de l'appareil, mais seulement une diminution considérable de l'opacité. Il est cependant de nombreux cas où l'on assiste au pôle positif, en quelques secondes et quelquefois même presque instantanément à l'apparition d'une ligne claire, rigoureusement limpide.

*
* *

En sorte que la technique microscopique met plus facilement en évidence les variations individuelles, tandis que la méthode macroscopique, beaucoup moins délicate, permet d'étudier le comportement de l'ensemble de la population bactérienne. Les deux méthodes correspondent donc à des buts différents. Elles se complètent.

*
* *

Dans la méthode macroscopique que nous avons utilisée, la ligne initiale d'éclaircissement se précise avec une netteté remarquable, grâce au disque de verre poreux que comporte l'appareil. La lecture de certains travaux laisse penser que les auteurs ont attribué une charge positive ou une charge négative aux Bactéries en se basant exclusivement sur un éclair-

cissement partiel et faible; dans ces conditions d'expérience, les causes d'erreurs sont nombreuses.

*
* *

Pour faire de bonnes mesures, les suspensions doivent être amenées à une dilution convenable, d'ailleurs variable avec chacune des deux méthodes employées.

*
* *

De l'ensemble des recherches résumées dans le Chapitre IV (A) de la Première Partie de ce Travail, il résulte que le phénomène de l'agglutination est sous la dépendance de différents facteurs d'action, parmi lesquels nous citerons : le mouvement vital, le mouvement brownien, la charge électrique, l'action des ions à charge positive, les forces de cohésion, la sphère d'attraction, le choc, la viscosité, les substances stabilisantes, les dimensions des particules dispersées, le chauffage des suspensions, le pH des suspensions, la mouillabilité, le rôle des parois.

En première approximation, on peut cependant considérer l'agglutination comme étant la résultante de plusieurs forces : d'une part des forces répulsives dues à la charge électrique, d'autre part des forces attractives. Il faut, de plus, tenir compte de la viscosité du milieu.

*
* *

Dans l'étude de l'électrophorèse des germes mis en suspension dans l'eau bidistillée, on évite la présence de trop fortes quantités d'électrolytes en utilisant des Bactéries cultivées sur des milieux de pH voisin de 7. Les cultures doivent autant que possible être assez jeunes (16 à 40 heures). Les corps microbiens sont soumis à 3 lavages avec de l'eau bidistillée. Dans ces conditions d'expérience, les germes que nous avons expérimentés se transportent, avec des vitesses variables, au pôle positif. Ils se comportent donc comme des particules chargées négativement.

*
* *

Il n'y a pas de parallélisme étroit entre l'agglutinabilité des microbes et leur vitesse de transport lorsque ceux-ci sont en suspension dans l'eau bidistillée et sont soumis au champ électrique.

*
* *

Lorsqu'on ajoute au liquide dispersif des quantités croissantes d'ions positifs, on constate qu'un germe qui se déplaçait très rapidement dans le champ électrique vers le pôle positif peut présenter d'abord une vitesse de déplacement considérablement diminuée, puis parfois on assiste à l'immobilité, enfin, quelquefois à un renversement complet du sens du déplacement. La chute de vitesse varie avec l'espèce microbienne et l'ion précipitant utilisé. Mais, dans tous les cas, l'agglutination a lieu avant le point isoélectrique.

*
* *

La fixation du rouge neutre sur les plastides de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX diminue leur mobilité en même temps qu'apparaît la formation d'amas petits et moyens. En présence de NaCl, toutes les plastides sont réunies sous forme de gros amas. Il est à remarquer qu'amas petits, moyens ou gros sont transportés au pôle positif. L'agglutination par les colorants a donc lieu également avant le point isoélectrique.

*
* *

L'adsorption du colorant est une condition nécessaire mais non suffisante pour amener la précipitation des plastides. D'autres facteurs interviennent.

*
* *

Conformément aux expériences classiques de BORDET, les plastides de *B. caryocyaneus* BEIJERINCK-DUPAIX, mises en présence de sérum homologue très dilué ou de sérum débarrassé d'électrolytes par électrodialyse de BECHHOLD, restent isolées. Dès que la concentration en NaCl atteint 50 milligrammes par litre, on constate que 4/5 des plastides sont isolées et 1/5 réunies en amas petits et moyens. Pour une concentration de 100 milligrammes en NaCl, les amas sont nombreux. Or, à mesure que croît la concentration en NaCl, la vitesse de transport diminue. L'agglutination, là encore, a lieu avant le point isoélectrique.

*
* *

L'étude systématique de la mobilité des plastides provenant de cultures

d'âges différents n'a pas montré de relation entre la vitesse de transport et l'âge des Bactéries, bien que nous nous soyons placé dans les conditions les plus favorables à la mise en évidence de ce phénomène et ceci tant pour les Bactéries sporogènes que pour les Bactéries asporogènes. En tous cas, s'il y a des variations, elles sont très faibles et d'un ordre inférieur ou égal à la précision de la méthode employée.

*
* *

Malgré la différence énorme dans la stabilité des suspensions de *B. caryocyanus*, chauffées à 80° C. ou non chauffées, il n'y a pas d'écart entre les vitesses de déplacement de leurs plastides dans le champ électrique.

*
* *

Toutes les Bactéries que nous avons expérimentées, mises en suspension dans l'eau bidistillée, sont transportées vers le pôle positif, même celles qui sont considérées comme « positives » par quelques auteurs.

*
* *

Les vitesses de transport des Bactéries varient d'une espèce microbienne à l'autre, mais dans une même suspension le facteur individuel peut jouer un rôle considérable.

*
* *

Les différentes souches bactériennes d'une même espèce (*Colibacille*, *B. subtilis*) soumises à l'action du champ électrique ont des vitesses différentes.

*
* *

La variabilité des Bactéries a suscité de nombreuses recherches et pour certains Bactériologistes, du moins de l'époque héroïque, il n'y avait pas d'espèces en Bactériologie. Puis, on s'est efforcé de transposer les notions de mutation (BURRI), filtrage de formes préadaptées (LASSEUR) en Microbiologie. Pendant longtemps, les Bactériologistes essayaient de ramener la forme des colonies bactériennes à un type donné; tel, l'exemple de la colonie en montagne de glace. Puis, les variations observées dans les fermentations d'une part, chez les Bactéries pathogènes d'autre part,

ont conduit à la notion de dissociation (au sens de HADLEY, ARKWRIGHT).

Les Bactéries ne peuvent pas être identifiées par un seul caractère et leur charge électrique doit varier avec le type considéré aussi bien que leur agglutinabilité, que leur pouvoir antigénique ou que la forme des colonies. C'est ce que nous nous sommes efforcé de mettre en évidence dans le chapitre V.

L'étude des différentes propriétés des types dissociés montre que ceux-ci ne se comportent pas de la même façon. Dans ces recherches, il est cependant possible de rapprocher l'un de l'autre certains types, tantôt le type Ra du type Rb, tantôt le type Rb du type S, ceci suivant l'espèce considérée.

Les mesures de mobilité dans le champ électrique nous ont amené à faire des observations analogues en ce sens que les différents types dissociés d'une même espèce bactérienne ont des vitesses de transport différentes.

*
**

Il paraît possible, lorsqu'on est en présence de plusieurs types dissociés d'une même espèce bactérienne, de constituer 2 groupes à mobilité différente ; les types Ra et S paraissent avoir une mobilité sensiblement du même ordre et le type Rb présente une vitesse de transport tantôt plus grande, tantôt plus petite que les 2 autres types.

— : —

BIBLIOGRAPHIE

- ALVERDES (F.). — Ueber Galvanotaxis und Flimmerbervegung. *Biologisches Centralblatt*, 43, p. 50-70, 1923.
- ANGERER. — *Arch. Hyg.*, 92, 1923-1924.
- ARNOLD et WEISS. — *Journ. of Infect. Dis.*, 1924 et 1925.
- BANCROFT (F.-W.). — Note en the galvanotropic reaction of the Medusa. *Journ. exper. Zool.*, vol. I, p. 289, 1904.
- BANCROFT (F.-W.). — The mecanism of the galvanotropic orientation in volvox. *J. of Exper. Zoologg.*, vol. IV, p. 153-157, 1907.
- BARY (P.). — Les colloïdes, leurs gelées et leurs solutions. Dunod, éditeur, 1921.
- BECHHOLD. — La floculation de suspensions colloïdales et l'agglutination bactérienne. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, Band 48, p. 385-423, 1904.
- BECHHOLD. — *Kolloid. Zeitschr.*, 66, H. 3; 67, H. 1, 1934.
- BEDSON et BRAND. — *Brit. journ. of Exp. Med.*, 10,67, 1929.
- BIRUKOFF (B.). — Untersuchungen über galvanotaxis. *Arch. für Physiol.*, Band 77, p. 555-585, 1899.
- BLASIUS (E.) et SCHWEIZER (F.). — Electropismus und verwandte Erscheinunge. *Arch. für Physiol.*, Band 53, p. 493-543, 1893.
- BOGUE (Robert-Hermann). — *Traité de chimie colloïdale* traduit par J. BARBAUDY, t. I, Chimie colloïdale théorique, 644 pages, Librairie Hermann, Paris, 1928.
- BOULARIC (A.). — Les colloïdes et l'état colloïdal. Librairie Félix Alcan, 1931.
- BOULARIC (A.). — Ascension des solutions colloïdales et des solutions colorantes à travers les corps poreux. *Bulletin de l'Associat. des Diplômés de Microbiol. de la Fac. de Pharm. de Nancy*, n° 12, 1936.
- BURKE (V.) et GIBSON (F.-O.). — The gram reaction and the electric charge of Bacteria. *Journ. of bacteriology.*, vol. 26, n° 2, 1933.
- BURTON (E.-F.). — The physical properties of colloïdal solutions. Longmans, Green and C°, London, 221 pages, 1921.
- CARLGREN (O.). — Der Galvanotropismus und die innere Kataphorese. *Zeitschrift für allegemeine Physiologie*, 5, p. 123-130, 1905.

- CANTACUZENE (J.) et VLES. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 87, p. 1155-1157, 1922.
- CANTACUZENE (J.) et BONCIU. — *Compte-rendu Acad. des Sciences*, 182, 1185, 1926.
- CANTACUZENE (J.) et BONCIU. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 96, 1143, 1927.
- CANTACUZENE (J.) et BONCIU. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 97, 398, 1927.
- CANTACUZENE (J.) et SORU (Eugénie). — Recherches sur le mécanisme de l'accrolement de l'Épiploon aux portions lésées de la cavité péritonéale. Intervention de phénomènes d'ordre électrostatique. Extrait des *Archives roumaines de pathologie expérimentale et de Microbiologie*, Masson et C^o, Paris, t. 4, n^o 2, 1931.
- CASAGRANDE (O.) et CASAGRANDE (C.). — Virus filtrabili et ultrafiltr. *Atti. Soc. Med. Chir. di Padova*, 1926.
- CERNOVODEANU (M^{lle} P.) et HENRI (V.). — Détermination du signe électrique de quelques microbes pathogènes. *C. R. de la Soc. de Biol.*, p. 200, 1906.
- CHWOLSON. — *Traité de physique*, tome I, fasc. 3, 1907.
- CLUZET, ROCHAIX et KOFFMAN. — Sur le galvanotropisme des microbes. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 38, p. 779, 1923.
- CLUZET, ROCHAIX et KOFFMAN. — Effets bactéricides de l'action combinée du galvanotropisme et des rayons X. *C. R. de la Soc. de Biol.* t. 38, p. 780, 1923.
- COMMANDON (J.). — Transport électrique des microbes. *Archives d'électricité médicale*, t. 23, p. 49-58, 1913.
- COPLANS (M.). — Changes in electro-conductivity occurring in certain specific serum reactions: typhoid fever, Pneumonia, syphilis. *Journ. of Pathology and Bacteriology*, t. 17, p. 130, 1912-1913.
- COPLANS (M.). — Specific cataphoresis in the diagnosis of syphilis and other conditions. *Journal of Pathology and Bacteriology*, t. 17, p. 132, 1912-1913.
- COTTON et MOUTON. — Les Ultra-microscopes et les objets ultra-microscopiques. Masson, Paris, 1906.
- DAMBOVICEANU. — *Compte-rendu de la Soc. de Biol.*, t. 103, p. 633, 1930.
- DAMBOVICEANU, CORNELIA COMBIESCO et SORU (E.). — Action *in vitro* du Bactériophage sur les propriétés du Vibron cholérique. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 115, p. 1320, 1934.
- DE KOCH. — *Zentralbl. Bakter.*, I Orig., 99, 209, 1926.
- DE KRUIF (P.-H.) et NORTHROP (J.-H.). — *Journal of gen. physiology*, t. 5, p. 127-138, 1922-1923.
- DOUGLAS et SMITH. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, t. 9, 1928.
- DUPAIX (Andrée). — *B. caryocyanus* Beijerinck-Dupaix. Recherches sur le mécanisme du phénomène de Charrin et Roger. Imprimerie Le François, Paris, 1933.

- EISENBERG (P.) et VOLK (R.). — Untersuchungen über die Agglutination. *Zeitschr. für Hyg.*, 40, 155, 1902.
- FALK, GUSSIN et JACOBSON. — *Journ. Infect. Dis.*, 37, 1925.
- FINDLAY. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, 11, 134, 1930.
- FRANKEL et SCHULTZ. — *Zeitschr. Immunitätsforsch.*, 51, 382, 1927.
- FREUNDLICH (H.). — Action sensibilisante des sols hydrophiles. In Bogue: *Traité de Chimie colloïdale*, Hermann et C^o, Paris, 1928.
- GILDEMEISTER et HERZBERG. — *Zentralbl. Bakter.*, I Orig., 91, 1923-1924.
- GIRARD (P.) et AUDUBERT (R.). — Les charges électriques des microbes et leur tension superficielle. *C. R. Acad. Sciences*, t. 167, p. 351, 1918.
- GIRARD (P.) et LOURAU (M^{me} M.). — Méthode et technique pour l'électrophorèse de liquides organiques. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 116, p. 1007 et 1010, 1934.
- GOVEARTS (P.). — Accolement des microbes aux plaquettes sanguines et charges électriques. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 38, p. 993-996, 1923.
- GUARDABASSI (M.). — Sulla cataforesi del batteriofago anti-Shiga. 32^e Congrès de la Société italienne de Médecine, 1926-1927.
- GUARDABASSI (M.). — La carica elettrica di alcuni ultravirus. *Revue de Biologie*, vol. 11, fasc. 5-6, 1929.
- GUARDABASSI (M.). — Sul potere patogeno per la cavia del sangue di leucemico sottoposto ad elettroforesi. *Bulletin de l'Académie de Médecine de Perugia*, n° 1, 1932.
- GUARDABASSI (M.). — Sur l'isolement du Virus tuberculeux du sang humain par l'électrophorèse. *Bulletin de la Section italienne de la Société internationale de Microbiologie*, fasc. 3, mars 1934.
- GUARDABASSI (M.). — Caratteri fisico-chimici degli ultravirus. *La Diagnosi*, fasc. 3, 14^e année, 1934.
- GUASTALLA (M^{me} L.). — Appareil par cataphorèse assurant l'invariance du pH du milieu dans les zones anodique et cathodique. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 107, p. 508, 1931.
- GUILLIERMOND (A.) et CHOUCROUN (M^{me} N.). — Essai d'électrophorèse à l'intérieur des cellules végétales. *C. R. Acad. des Sciences*, 20 juillet 1936.
- HERMANN (L.). — Eine Wirkung galvanischer Ströme auf Organismen. *Arch. für Physiol.*, 37, p. 457, 1885.
- HINDLE et FINDLAY. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, 2, 134, 1930.
- HIRSCH (E.). — Etude sur les ions H⁺. *Journ. Infect. di Chicago*, t. 30, p. 651-657, 1922.
- JONESCO, MIHAESTI, TUPA, WISNER et MESROBEAUNU. — *Arch. Roum. Path. et Microb.*, 2, 1929.
- Joos (A.). — Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums. *Centralbl. für Bakt.*, I, 33, 762, 1903.

- KLIGER et OLITSKY. — *Brit. Journ. Exp. Path.*, 12, 393, 1931.
- KOFMAN (T.). — Recherches sur le signe électrique des microbes. Travail dactylographié, Lyon, 1926.
- KOPACZEWSKI. — *Traité de Biocolloïdologie*, t. I, p. 461. Librairie Gauthier-Villars, 1930.
- KRUEGER, RITTER et SMITH. — *Journ. of. Exp. Méd.*, 50: 739, 1929.
- KRUYT (H.-R.). — Les colloïdes. — *Manuel de chimie colloïdale*. Traduit de l'anglais, par J. DU PLESSIS DE GRENEDEAN. Librairie Alcan, Paris, 1933.
- KUWASI TOMITA. — *Acta Schola Med. Univ. Imp. Kioto*, 9, 327, 1926.
- LARGUIER DES BANCELS (J.). — Recherches sur la charge électrique des substances textiles plongées dans l'eau ou dans les solutions électrolytiques. *C. R. Acad. des Sciences*, t. 149, p. 316, 1909.
- LASSEUR (Ph.) et SPILLMANN (L.). — Réactions anticorps. Imprimeries réunies de Nancy, 1921.
- LASSEUR (Ph.) et DUPAIX (A.). — Observations sur le mécanisme de l'agglutination sérique des microbes (Phénomène de CHARRIN et ROGER). *Archiv. fur Mikrobiol.*, 1929.
- LASSEUR (Ph.) et JOUFFROY (P.). — Transport électrique des plastides bactériennes. Fascicule I des *Travaux du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy*, 1928.
- LASSEUR (Ph.) et FRIBOURG (R.). — Transport électrique des plastides bactériennes. *Ibidem*, fasc. I, 1928.
- LASSEUR (Ph.) et NOBLAT (A.-M.). — Rôle des électrolytes dans la fixation des agglutinines. *Ibidem*, fasc. I, 1928.
- LASSEUR (Ph.) et DUPAIX (A.). — Considérations générales sur le mécanisme de l'agglutination sérique des microbes. *Ibidem*, fasc. II, 1929.
- LASSEUR (Ph.) et FRIBOURG (R.). — Description d'un appareil utilisé dans le transcrit macroscopique. *Ibidem*, fasc. II, 1929.
- LASSEUR (Ph.), FRIBOURG (R.), DUPAIX (A.), LECAILLE (R.) et SERRA (J.). — Transport électrique des Bactéries et des Champignons. *Ibidem*, fasc. III, 1930.
- LASSEUR (Ph.) et DUPAIX (A.). — Observations sur le mécanisme du phénomène de CHARRIN et ROGER. *Ibidem*, fasc. V, 1932.
- LASSEUR (Ph.) DUPAIX (A.). et FRIBOURG (R.). — Cataphorèse des plastides bactériennes. *Ibidem*, fasc. VI, 1933.
- LASSEUR (Ph.), MARCHAL (J.-G.) et MAGUITOT (C.). — Analyse capillaire et isolement des Bactéries dans les mélanges bactériens. *Ibidem*, fasc. VII, 1934.
- LASSEUR (Ph.), DUPAIX-LASSEUR (A.) et FRIBOURG (R.). — Transport électrique des Bactéries. *Ibidem*, fasc. VII, 1934.
- LÉPINE (P.). — Virus vaccinal et cataphorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 103, p. 1208-1210, 1930.

- LÉPINE (P.). — Action de la cataphorèse sur le virus encéphalitique. Récupération du virus par la cataphorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 104, p. 760-762, 1930.
- LÉPINE (P.). — Nouvel appareil pour la cataphorèse des liquides virulents. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 105, p. 282, 1930.
- LÉPINE (P.). — Action de la cataphorèse sur le virus de la peste aviaire. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 105, p. 285-286, 1930.
- LEVADITI (C.) et LÉPINE (P.). — Recherches par la cataphorèse, du virus poliomyélitique dans la moelle de singes atteints de lésions chroniques. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 106, p. 34-35, 1931.
- LEVADITI (C.) et LÉPINE (P.). — Les Ultravirus des maladies humaines. Librairie Maloine, Paris, 1938.
- LEWIS. — Chimie physique. Librairie Masson, Paris, t. 1, 1920.
- LINDER (E.) et PICTON (H.). — Solution and pseudo-solution. *Journ. Chem. Soc. (Transactions)*, t. 61, p. 148, 1892.
- LISBONNE et SEIGNEURIN. — Sur l'électrophorèse des Brucella. *C. R. des séances de l'Académie des Sciences*, t. 196, p. 1747, 1933.
- LUERS et GENS. — *Kolloid Zeitschrift*, 30, 327, 1922.
- MARMIER (L.) et GRYZEZ (V.). — Nouvelle préparation par cataphorèse d'un Bactériophage purifié. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 107, p. 317-318, 1931.
- MARMIER (L.) et GRYZEZ (V.). — Purification du Bactériophage par électrophorèse; son utilisation thérapeutique. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. 55, p. 641, 1935.
- MARTIN et LAFFAILLE. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 95, p. 284, 1926.
- MICHAELIS (L.). — *Biochem Zentralbl.*, Band 3, p. 693, 1904-1905.
- MICHAELIS (L.). — *Manuel de techniques de Physico-Chimie*. Librairie Masson, Paris, p. 126, 1923.
- MUDD (S.) et MUDD (E.-B.-H.). — The penetration of bacteria through capillary spaces. *Journ. of Bact.*, vol. 9, p. 151-167, 1924.
- MUTSAARS. — *Annales de l'Institut Pasteur*, p. 52, p. 118, 1934.
- NATARAYAN et HYDE. — *Amer. Journ. of Hyg.*, 652, 1930.
- NEISSER et FRIEDEMANN. — Studien über Ausflockungsercheinungen Beziehungen zur Bakterienagglutination. *Muenchener medizinische Wochenschrift*, p. 827-831, 1904.
- NICOLAU (S.) et KOPCOWSKA (L.). — Virus herpétique et cataphorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 104, p. 290, 1930.
- NICOLAU (S.) et KOPCOWSKA (L.). — Virus herpétique et cataphorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 104, p. 1134, 1930.
- NICOLAU (S.) et KOPCOWSKA (L.). — Essais de réactivation, à l'aide de la glycérine ou de la cataphorèse, du virus rabique dans le cerveau de certains lapins morts de « neuro-infection autostérilisée ». *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 104, p. 1139, 1930.

- NICOLAU (S.) et KOPCOWSKA (L.). — Virus rabique et cataphorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 104, p. 1142, 1930.
- NICOLAU (S.) et GALLOWAY. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 44, 673, 1930.
- NICOLAU (S.), KOPCOWSKA (L.) et CONSTANTINESCO (V.). — Immunité et virus filtrables. Recherches par l'électrophorèse du virus herpétique dans le névraxe des lapins immunisés. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 106, p. 1100, 1931.
- NICOLAU (S.) et KOPCOWSKA (L.). — Virus de l'encéphalo-myélite enzootique (maladie de Borna) et électrophorèse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 108, p. 364, 1931.
- NORTHROP (J.-H.). — *Journ. Gen. Physiol.*, Baltimore, t. 5, 1922-1923.
- NORTHROP (J.-H.). — Flocculation et stabilité des suspensions colloïdales. In Robert BOGUE. — *Traité de Chimie colloïdale*. Traduit par J. BARBAUDY, t. 1, chap. 3, 1928.
- OLITSKY. — *Journ. of Immun.*, 12, 251, 1932.
- OLITSKY et BOEZ. — *Journ. Exp. Med.*, 45, 1927.
- PIJPER (A.). — Dark-Ground Studies of Flagellar and Somatic Agglutination of *B. typhosus*. *The Journal of Pathol. and Bacteriol.*, vol. 47, n° 1, p. 1, 1938.
- PRAUSNITZ et FIRLE. — *Zentralbl. Bakter.*, 1, Orig., 93, 1924.
- PRAUSNITZ et REISTTÖTTER. — *Wissens. Forschungsbl.*, 24, 1931.
- PUTTER. — *Zeitschrif. Immunitforsch. U. Exp. Therap.*, 32, 538, 1921.
- REZZESI. — *Boll. Ist. Sierot. Milanese*, Fasc. 7, 1932.
- ROSENOW (E.-G.). — Vitesse de cataphorèse des streptocoques isolés dans les recherches sur les arthrites. *Archives of internal Medicine*, t. 51, n° 3, Chicago, 1933.
- ROHT (P.). — Sur la polarité électrochimique des Infusoires. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 97, p. 150, 1927.
- SEIGNEURIN (R.). — Recherches sur la conductibilité et l'électrophorèse des suspensions microbiennes, 209 pages. Imprimerie de la manufacture de la Charité, Montpellier, 1935.
- SEIGNEURIN (R.). — Dissociation par électrophorèse du Bacille paratyphique B. Compte-rendu du premier congrès international de l'Association des Microbiologistes de langue française, p. 78, octobre 1938.
- SEKI (M.). — Eine neue Diagnostik der Syphilis auf Grund der seroelektrischen Reaktion. *Okayama-Igakkaï Zasshi*, n° 388, 1922.
- SEKI (M.). — Studien der elektrischen Ladung und Färbbarkeit der Erythrocyten in Rücksicht auf die Beziehung zwischen Stroma und Hämoglobin. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, Band 17, Heft 1, 1933.

- SORU (Eugénie). — Recherches sur le signe de la charge électrique des Bactéries et des cellules défensives à l'état normal et dans l'immunité. *Archives roumaines de Pathologie expérimentale et de Microbiologie*, t. I, n° 4, 1928.
- SORU (E.). — Signe de la charge électrique des Bacilles typhiques et du « *Bacillus tumefaciens* » normaux et sensibilisés ainsi que de leurs agglutinines spécifiques. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 100, p. 904, 1929.
- SORU (E.). — Agglutination par les acides et potentiel électrique du *Bacillus tumefaciens*. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 101, p. 969, 1929.
- SORU (E.). — Le potentiel électrique de quelques espèces de vibrions cholériques. *C. R. de la Soc. de Biol.*, t. 115, p. 1319, 1934.
- SZENT-GYÖRGYI (A.-V.). — Etude physico-chimique de l'agglutination. *Biochem. Zeitschrift*, p. 36, 1921.
- TEAGUE (O.) et BUXTON (B.-H.). — Die agglutination in physikalischer Hinsicht 3. *Zeitschr. für Phys. Chem.*, t. 57, p. 76-89, 1907.
- THOMAS (A.-W.). — In R. H. Bogue: Traité de chimie colloïdale. Librairie Hermann, Paris, 1928.
- THORNTON (W.-M.). — *Proc. Roy. Soc. London B.*, 82, 1909-1910.
- TODD. — *Brid. Journ. Exp. Path.*, 8, p. 369, 1927.
- VERWORN. — Die polare Erregung der lebendigen Substanz durch den constanten Strom. *Archiv. für d. ges. Physiol.*, Bd. 65, p. 47-62, 1896.
- VLÈS (F.). — Précis de Chimie-Physique. Librairie Vigot, Paris, 1929.
- WINSLOW, FALK et CAUFIELD. — *Kolloid Zeitschrift*, 34, p. 247, 1924.
- WINSLOW, FALK et UPTON. — *Journ. of Bactéria*, 11, n° 5, 1926.
- YAMAHARA (G.) et ISHII (T.). — Sur la concentration en ions H et la réaction isoélectrique des protoplastes végétaux, spécialement du noyau cellulaire et des plastides. *Protoplasma*, Band 19, Heft 2, p. 194-212, 1933.
- YAMAHARA (G.) et ABE (S.). — Weiteres über den isoelektrischen Punkt der Bakterien. *Science Reports of the Tokyos Bunrika daigaku*, Section B., n° 21, 1934.
-

VU:

Nancy, le 27 mars 1939.

Le Président de Thèse,

Ph. LASSEUR

VU ET APPROUVÉ:

Nancy, le 30 mars 1939

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

F. KAYSER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER:

Nancy, le 30 mars 1939

Le Recteur de l'Académie,

L. BRUNTZ.

Président du Conseil de l'Université.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION.	13

PREMIERE PARTIE

Technique, Historique et Applications du transport électrique des Bactéries, des Champignons et des Cellules

CHAPITRE I. — Description du phénomène	17
CHAPITRE II. — Techniques employées dans le transport électrique des Bactéries, des Champignons et des Cellules.....	19
CHAPITRE III. — Historique des résultats	29
A. — Transport des Bactéries et des Champignons.	29
B. — Transport des grosses cellules animales et vé- gétales	36
CHAPITRE IV. — Applications du transport électrique.....	41
A. — Résumé préliminaire sur la théorie de l'ag- glutination.	41
B. — Application du transport électrique à l'étude du rôle de la charge électrique dans l'agglu- tination.	66
C. — Application à l'isolement des virus filtrants...	73
D. — Application à la caractérisation de différents types microbiens par leur charge électrique.	79
E. — Application à l'étude de la relation entre la charge électrique et la colorabilité.....	81
F. — Application à l'analyse capillaire	82

DEUXIEME PARTIE

Recherches personnelles

CHAPITRE I. — Techniques employées	87
CHAPITRE II. — Transport électrique des germes mis en suspension dans l'eau bidistillée	97

CHAPITRE III. — Variations dans le transport électrique des Bactéries en présence d'électrolytes	101
A. — Transport électrique des suspensions bactériennes additionnées de doses croissantes d'électrolytes	101
1° Electrolytes incapables de précipiter les corps microbiens en l'absence d'agglutinine.	101
2° Electrolytes capables de précipiter les corps microbiens en l'absence d'agglutinine spécifique	103
a) Ions H+	103
b) Sulfate d'alumine	106
c) Colorants.	106
B. — Transport des Bactéries en présence de sérum homologue et de quantités croissantes d'électrolytes	108
C. — Variations du transport en présence de notables ou de très faibles quantités d'électrolytes provenant du milieu de culture.....	109
CHAPITRE IV. — Influence de l'âge et du chauffage des Bactéries sur leur transport dans le champ électrique.....	113
A. — Variations du transport électrique avec l'âge des Bactéries	113
B. — Transport électrique des suspensions bactériennes chauffées à 80° C.	121
CHAPITRE V. — Influence de l'espèce bactérienne, de la souche et du type dissocié dans l'électrophorèse	123
A. — Influence de l'espèce bactérienne	123
B. — Influence de la souche bactérienne.....	127
C. — Influence du type dissocié	129
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	137
BIBLIOGRAPHIE	143

